



Tesis
Doctoral

Dinámica de la revegetación de taludes de infraestructuras
lineales: manejo y optimización de la cobertura vegetal

Desiré Rivera
García

Tesis Doctoral

Dinámica de la revegetación de taludes de infraestructuras lineales: manejo y optimización de la cobertura vegetal

Desiré Rivera García

Octubre 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS

Departamento de Ecología



**Dinámica de la revegetación de taludes de infraestructuras lineales:
manejo y optimización de la cobertura vegetal.**

Memoria presentada por **Desiré Cristina Rivera García** para optar al título de Doctor
en Ecología por la Universidad Autónoma de Madrid.

Bajo la dirección de las doctoras:

Begoña Peco Vázquez
Catedrática del Departamento de Ecología
Universidad Autónoma de Madrid

Berta Martínez Jáuregui
Dirección de Innovación y
Sostenibilidad
Obrascón Huarte Lain S.A.

TESIS DOCTORAL

Madrid, 2012



A mis padres

A Miguel

Agradecimientos

Redactar este apartado de la tesis significa haber terminado esta etapa de doctorando en la que he vivido grandes experiencias, muchas de ellas buenas y otras, las menos, malas. Durante estos tres años largos, he pensado acerca de este momento, en el que has de sentarte y escribir los agradecimientos. Un ejercicio de reconocimiento para todas aquellas personas que han aportado su granito de arena (o una gran roca), y que, sin muchas de ellas, esta Tesis Doctoral no habría salido adelante.

Para empezar, quiero agradecer a los que han hecho posible, en primera instancia, que esta Tesis fuera posible: los organismos de financiación. La presente Tesis Doctoral se incluye en el ámbito de un proyecto de investigación industrial más amplio denominado PROYECTO CENIT-OASIS (Operación de Autopistas Seguras Inteligentes y Sostenibles), aprobado en la convocatoria CENIT 2008-2011. Por tanto, ha contado con subvenciones por parte del Centro para el Desarrollo Tecnológico e Industrial (CDTI) perteneciente al Ministerio de Ciencia e Innovación. Dentro del consorcio de empresas que han colaborado en dicho proyecto se encuentran: IRIDIUM, OHL CONCESIONES, ABERTIS, SICE, INDRA, DRAGADOS, OHL, GEOCISA, GMV, ASFALTOS AUGUSTA, HIDROFERSA, EIPSA, PyG, CPS, AEC, TORRE DE COMARES. Sin embargo, la empresa Obrascón Huarte Lain S.A. (OHL) ha sido el principal punto de apoyo con el que se ha contado para llevar a cabo esta Tesis, tanto en la búsqueda de escenarios posibles para los diseños experimentales, como en temas de logística (maquinaria, permisos, cuadrillas de trabajo, etc.). Asimismo, este proyecto ha sido cofinanciado con la ayuda a grupos de investigación de la Comunidad de Madrid para la Restauración Ecológica del Medio Natural, Proyecto REMEDINAL (Referencia: S0505/AMB-0335) y REMEDINAL 2 (Referencia: S2009/AMB-1783). También ha sido cofinanciado con el proyecto GLO 2007-633827- BOS del ministerio de Ciencia e Innovación, con la ayuda Torres Quevedo (PTQ-09-01-00728) para la contratación de la doctora Berta Martínez Jáuregui en el ámbito de la empresa, otorgada por el Ministerio

de Ciencia e Innovación y, por la beca de movilidad Salvador de Madariaga (PR2011-0491) para Begoña Peco otorgada por el Ministerio de Educación.

En segundo lugar, pero no menos importante, me gustaría agradecer la oportunidad que me brindó Begoña Peco, una de las directoras de la presente Tesis, de formar parte de un proyecto de esta índole y poder llevar a cabo mi doctorado en Ecología. Gracias a Berta M. Jáuregui, mi otra directora, por todo el apoyo que me ha dado, por los consejos en esta fase tan dura del doctorando, y por trabajar codo con codo junto a mí en el campo, en el laboratorio y en el despacho. Gracias a las dos por todo lo que he aprendido con vosotras.

Quería agradecer también a aquellas personas que hicieron que me picara el gusanillo de la investigación y por introducirme en este mundo, que aunque sufrido, es muy enriquecedor e interesante. Gracias por esto a Juan Traba y a Manuel Morales, profesores del Departamento de Ecología de la UAM y directores de mi Tesis de Maestría. Gracias también a Luis Miguel Bautista, quien me dio la oportunidad de trabajar y colaborar en un centro como el Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC durante mis prácticas de empresa y el Proyecto Fin de Carrera.

Aunque ya he agradecido anteriormente la importante labor de OHL en el desarrollo de esta Tesis, quiero agradecer personalmente a Iñaki Mola su colaboración y ayuda durante el diseño de experimentos y la fase de investigación en escenarios de construcción de infraestructuras, en los que los problemas y contratiempos estuvieron (y están) a la orden del día.

En el desarrollo de esta Tesis hemos contado con colaboraciones sin las cuales hubiese sido complicado llegar hasta aquí. Gracias a Marga Costa. Gracias por tu gran esfuerzo en la identificación de especies durante las cuatro primaveras, y por enseñarnos siempre con gran entusiasmo, que las “malas hierbas” también son importantes. Gracias también a Ana Buades. Gracias por tu energía para avanzar cuadrado a cuadrado en las largas jornadas bajo condiciones casi insufribles. Asimismo, vaya mi agradecimiento a

Catherine Levassor por su colaboración en la identificación de germinaciones, ¡incluso en estado cadavérico!, en los bancos de semillas de los invernaderos y en los muestreos de vegetación. Gracias a Paco Martín-Azcárate por sus útiles consejos y su gran ayuda en muestreos, identificando germinaciones y, simplemente por estar ahí para cualquier consulta. Gracias también a Anabel López y Mari Carmen Guerrero por su ayuda para que en esta Tesis hubiera una unión más sólida entre las relaciones planta-suelo.

También quiero agradecer los conocimientos y experiencias aportadas por los responsables del PROYECTO-CENIT CLEAM de la Universidad Complutense de Madrid en nuestros primeros pasitos en el mundo de la restauración ecológica. Gracias por tanto a Luis Balaguer, Miguel Ángel Casado, Mariló Jiménez, Rocío de la Torre y Quique García.

En estos años he pasado mucho tiempo con mis compañeros de despacho, pero en especial con Carlos Pérez. Esas horas de atasco compartiendo coche y largas charlas sobre experimentos, diseños, estadística, y muchas otras cosas. Gracias por tu contribución intelectual y por tu apoyo moral durante todo este tiempo.

Gracias también a Juan Hernández. Gracias por tu gran ayuda en uno de los momentos de más trabajo. Gracias por tus horas en los invernaderos anotando germinaciones, por tu trabajo en el campo, por todo el tiempo en el laboratorio separando semillas, por “cantar” los datos en el despacho. Gracias por hacer que el trabajo fuese más agradable. Carlos y Juan, no se me olvidará haber vuelto tan mojados tras una granizada en el campo, que tuviésemos que parar por el camino a comprar ropa seca; ni tampoco el día que la furgo decidió hundirse en el barro, o el día que nos turnamos para picar con la azada, recoger con la pala y extender con el rastrillo.

En el desarrollo de los distintos experimentos hemos contado con la colaboración puntual de estudiantes que llevaron a cabo su Proyecto de Fin de Carrera como Gabriel de la Rosa y Javier Sanz y, con estudiantes del Máster de Ecología como Violeta Mejías y Alfredo Aalcalde. Gracias a Javi y Gaby por colaborar en la tarea de descolgarse por

los desmontes de la A-1 para colocar y recoger las bolsas de hojarasca. Y sobre todo gracias a Violeta, por hacer más fácil el tiempo en el laboratorio midiendo actividad enzimática y por haberte hecho tan amiga del “Ishra” o Irga para los que no tienen tanta confianza. . También doy gracias a Juan Aburto por sernos de guía en la vuelta al biólogo de bata en los laboratorios y por su colaboración en el campo.

He podido contar con “terapeutas” exclusivos que me dieron gran apoyo en esta andadura y sobre todo grandes consejos de su propia experiencia. Gracias Irene Guerrero por ser mi “constante”. Y gracias Pablo Acebes por tu ayuda en los momentos de flaqueza.

Por supuesto es imprescindible poder contar con momentos de desconexión durante la elaboración de la Tesis, por ello quiero dar las gracias a todos los del “club del táper” (o fiambarrera para los más académicos, que los hay) de la biblioteca. Gracias por todos los buenos momentos y sobre todo, por esa dosis de chocolate que tanto ayudaba a afrontar las tardes. Así pues gracias a Carlos, Paco, Bea, Rocío, Espe, Paula, Irene G., Pablo A., Cristina, Paloma, Javi, Juan, Aimara y Pablo R. Tampoco quiero olvidarme de los que ya no están como yo: gracias a Iker, Carmen y Susana.

Después de estos 5 años, entre máster y doctorado, me gustaría agradecer el haber tenido la oportunidad de formar parte del Departamento de Ecología de esta universidad, gracias a cada uno de sus miembros. No quiero olvidarme de dar las gracias a una persona increíble que formó parte de este departamento desde hacía muchos años y que desgraciadamente ya no contamos con él. Muchas gracias Quico Suárez por la oportunidad que me diste al poder colaborar con Juanjo Rodríguez, y por los grandes momentos vividos durante la carrera, el máster y el doctorado.

Durante este tiempo he conocido a mucha gente con la que puedo contar, pero gracias a este proyecto, he podido conocer a una de las personas que más apoyo me ha dado durante estos años de duro trabajo: Beatriz Fernández. Muchas gracias por todo Anacleto!

Así como de mi etapa de doctorado me he llevado grandes amistades, de mi etapa final de la carrera pasando por el año y medio de durísimo trabajo en el Máster de Ecología he contado con un gran apoyo en mi vida, con la que he compartido entre otras muchas cosas, los duros momentos del doctorado y millones de correos de ánimo. Muchas gracias por estar ahí Teresa!

Gracias a mis padres, Cristina y Jorge, por dejarme decidir la dirección de mi futuro y apoyarme en todo momento. Gracias por formar parte de esto. Gracias a mis hermanos, Alberto y Richard. También quiero dar las gracias a mis abuelas Conchi y Loli. Gracias especialmente a mi abuela Conchi por su apoyo e ilusión en el inicio de mi carrera investigadora. Gracias a mi sobrino Mateo por verte crecer y sobre todo, perdóname por todas las horas que este proyecto te ha robado.

No puedo olvidarme de Chelo, Ángel y Cheli, sin cuyo apoyo y atención no podría haber terminado esta Tesis Doctoral. Muchas gracias a los tres!

Para acabar quiero dar las gracias a la persona a la que especialmente dedico esta Tesis Doctoral, Miguel. Empezamos juntos en esta andadura de la investigación y, aunque por el momento sólo contamos con esta Tesis, forma parte tanto de mí como de ti. Gracias Miguel por ser mi gran pilar y mi mayor fan. Gracias por todas las horas que me has dedicado a lo largo de la realización de esta Tesis. Mil gracias!

Índice

Introducción General	1
Objetivos de la tesis y estructura.....	12
Zonas de estudio.....	16
Metodologías experimentales.....	18
Referencias	20

Capítulo 1

Optimización de la tierra vegetal en la restauración de taludes	35
Resumen	37
Abstract	39
Introducción	39
Material y métodos.....	41
Resultados	44
Discusión	50
Conclusiones	52
Agradecimientos.....	53
Referencias	54
Anexo A.....	60
Anexo B.....	62

Capítulo 2

El extendido de tierra vegetal favorece la restauración de los procesos ecológicos de los terraplenes: fertilidad del suelo y actividad microbiana.....	67
Resumen	69
Abstract	71
Introducción	71
Material y métodos.....	74
Resultados	77
Discusión.....	80
Conclusiones	82
Agradecimientos.....	83
Referencias	84

Capítulo 3

Estiércol: una alternativa a la tierra vegetal en restauración	93
Resumen	95
Introducción	96
Material y métodos.....	99
Resultados	102
Discusión.....	106
Conclusiones	110
Agradecimientos.....	110
Referencias	111

Anexo C.....	119
--------------	-----

Capítulo 4

El destino de las semillas de herbáceas durante el acopio de tierra vegetal: potencial restaurador del banco de semillas	123
Resumen	125
Abstract	127
Introducción	128
Material y métodos.....	130
Resultados	134
Discusión.....	140
Conclusiones	143
Agradecimientos	144
Referencias	145

Capítulo 5

¿La tierra vegetal acelera la descomposición de la hojarasca en los taludes?	153
Resumen	155
Introducción	158
Material y métodos.....	160
Resultados	165
Discusión.....	171
Conclusiones	174
Agradecimientos	174
Referencias	175
Discusión general	185
Referencias	198
Conclusiones generales.....	208
Implicaciones y recomendaciones	210

INTRODUCCIÓN GENERAL



INTRODUCCIÓN GENERAL

La elevada tasa de crecimiento de la población mundial durante la última década, cerca del 1,25% anual (datos del Banco Mundial), ha traído consigo una preocupante intensificación de la explotación de los recursos naturales, así como un incremento en la construcción de infraestructuras (Forman y Alexander 1998; Forman 2000). En consecuencia, casi la mitad de la superficie terrestre ha sido transformada por la actividad humana contribuyendo al cambio climático, a la pérdida de diversidad biológica, a la degradación y desertificación de la Tierra, y a la contaminación del agua, del aire y del suelo (Vitousek et al. 1997). Esta variación en los usos del suelo, considerada como la primera causa de alteración del mismo (Lambin et al. 2001; Foley et al. 2005), influye sobre la capacidad de los ecosistemas para soportar y satisfacer las necesidades humanas (Vitousek et al. 1997; Foley et al. 2005), ya que aumenta la vulnerabilidad de los ecosistemas y de sus integrantes frente a desastres naturales (Lambin et al. 2001). Sin embargo, el mayor impacto generado por este proceso de cambio es la pérdida de biodiversidad a nivel global, ocasionada por la transformación y fragmentación de los hábitats naturales (Sala et al. 2000).

Un ejemplo de estos cambios en el uso del suelo es el provocado por la construcción de infraestructuras lineales de transporte, cuyo aumento en los últimos años ha sido notable (Forman y Alexander 1998). En Estados Unidos y Europa (UE-27) se estima que entre el 3% y el 6,5% del territorio lo ocupan autovías y vías férreas (Unión Europea 2011). Además, se espera que este crecimiento continúe mientras siga aumentando la población mundial y, con ella, la necesidad de mejorar su calidad de vida. Solamente en Europa, se estima que en la última década se han construido 15.000 km de carreteras (ERF, 2010); sin embargo, el impacto sobre el medio natural no sólo se limita al área ocupada por la infraestructura, sino a las zonas adyacentes.

En la fase de construcción de las infraestructuras lineales de transporte, se originan grandes movimientos de tierra para adaptar el relieve del terreno al trazado del proyecto, llegando a alterar no sólo la estructura del suelo sino también las comunidades vegetales y animales que allí habitan (Trombulak y Frissell 2000). Como consecuencia se generan

taludes artificiales desprovistos de vegetación y, por tanto, más vulnerables al efecto de la erosión (Arnáez y Larrea 1995; Martínez-Alonso y Valladares 2002; Bochet y García-Fayos 2004; Matesanz et al. 2005; Xu et al. 2011). La escorrentía y la pérdida de suelo son más acusadas en estos taludes debido a la pendiente que los caracteriza, propiciando la formación de regueros y cárcavas que limitan el establecimiento de la vegetación (Andrés y Jorba 2000; Bochet y García-Fayos 2004). Asimismo, la escasez de nutrientes y materia orgánica propia de los suelos con los que se construyen estos taludes (Dudeck y Young 1970; Sheldon y Bradshaw 1977; Muzzi et al. 1997; Jim 2001; Albaladejo et al. 2000), dificultan el desarrollo de una cubierta vegetal estable. Otros factores como la orientación, la capacidad de dispersión de las semillas y la disponibilidad hídrica (García-Fayos et al. 2000; Alborch et al. 2003; Tormo et al. 2009), influyen también en el establecimiento de una cubierta vegetal en los taludes.

Atendiendo al proceso de construcción que los originan, los taludes se clasifican en dos tipos: terraplenes y desmontes (Figura 1). Los primeros se generan al superponer materiales para elevar el trazado de la infraestructura, mientras que los desmontes se producen al llevar a cabo cortes o vaciados en el relieve del terreno para reducir el nivel de la infraestructura lineal. En estos desmontes, en ocasiones el corte del terreno puede dejar al descubierto la roca madre.

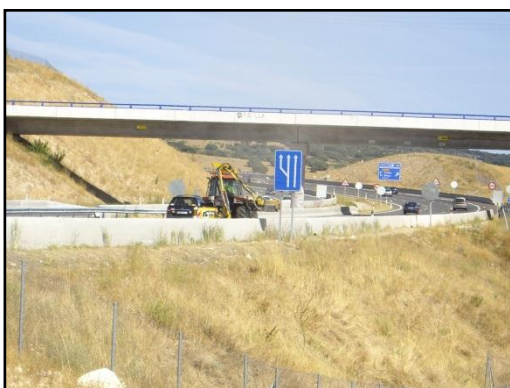


Figura 1: Terraplén de la autovía A-1, P.K. 40.



Figura 2: Desmonte en la autovía A-1, P.K. 42.

En los últimos años, la creciente concienciación social en defensa del medio ambiente, ha motivado la puesta en marcha de proyectos de restauración por parte de empresas constructoras y Administraciones Públicas para minimizar el impacto ambiental producido por estas infraestructuras. El objetivo principal de estos proyectos es favorecer el desarrollo de una cubierta vegetal estable que frene los problemas de erosión (Forman 2000; Forman y Alexander 1998; Montalvo 2002), y que contribuya a la conservación de la biodiversidad (Bote et al. 2005). Las limitaciones físicas de los taludes, junto a la ausencia de un ecosistema de referencia en la naturaleza hacia la que dirigir las distintas actuaciones a realizar, dificultan la restauración de estos espacios. Además del reto ambiental que supone una restauración de las zonas perturbadas, su éxito irá acompañado de una gran repercusión económica para las empresas que explotan estas infraestructuras (Arnáez y Larrea 1995; García-Fayos et al. 2000; Nicolau 2002; Matesanz et al. 2006), lo que ha suscitado el interés tanto del mundo científico como del empresarial por conocer los factores que influyen en la restauración de estos espacios (Montalvo et al. 2002; Bochet y García-Fayos 2004; Andrés y Jorba 2000; Matesanz et al. 2006, Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010a).

En los proyectos de restauración, las medidas que habitualmente se han contemplado para regenerar los ecosistemas degradados, a través del establecimiento de la vegetación, han sido la aplicación de hidrosiembras (Bote et al. 2005; Matesanz et al. 2006; Mola et al. 2011), las plantaciones (Jochimsen 2001; Holl 2002), la disposición de mallas geotextiles (Rickson 2006; Benik et al. 2003; Mitchell et al. 2003) y los extendidos de tierra vegetal (Rokich et al. 2000; Patzelt et al. 2001; Bote et al. 2005; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010). Sin embargo, la eficacia de estas medidas en la obtención de una cubierta vegetal ha sido muy debatida por la comunidad científica, especialmente en el caso de restauraciones realizadas en ambientes mediterráneos, con sequías frecuentes, elevado estrés hídrico, e intensas lluvias otoñales (Albaladejo et al. 2000; Matesanz et al. 2006; Mola et al. 2011; García-Palacios et al. 2010). En lo referente a las hidrosiembras, algunos autores han mostrado una relación directa entre el éxito de esta técnica y la época de aplicación, la fertilidad del suelo, la pendiente del talud o la disponibilidad de agua durante las primeras etapas (Andrés y Jorba 2000;

Bochet y García-Fayos 2004; Matesanz et al. 2006; Mola et al. 2011). Además, el empleo de mezclas comerciales de semillas en las que se incluyen especies alóctonas a la zona en la que se aplica la hidrosiembra, ha ocasionado problemas de invasión de especies en los taludes y zonas adyacentes, lo que hace necesario que se planteen nuevas alternativas a esta técnica que faciliten el establecimiento de una cubierta vegetal en los taludes.

Una alternativa posible es promover la restauración de las zonas degradadas a partir de los recursos de la matriz circundante (Mola et al. 2011). En estos casos, la llegada de propágulos así como la capacidad de las distintas especies para establecerse en ambientes muy perturbados, superando los problemas de arrastre y germinación de las semillas, serían los factores que condicionarían el éxito de la restauración (Alborch et al., 2003), aunque en este sentido se ha avanzado muy poco todavía.

El uso de la tierra vegetal para la restauración de espacios afectados por la construcción de infraestructuras lineales, ha sido descrito como un procedimiento muy eficiente para favorecer el establecimiento de una cubierta vegetal (Rokich et al. 2000; Patzelt et al. 2001; Bote et al. 2005; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010). Su éxito se debe fundamentalmente al elevado contenido en semillas autóctonas (Rokich et al. 2000; Holmes 2001; Tormo et al. 2007), nutrientes (Balaguer 2002) y microorganismos (Visser et al. 1984), que facilitan el proceso de colonización y desarrollo de la vegetación (Zhang et al. 2001; Balaguer 2002; Scoles y DeFalco 2003; Bote et al. 2005). No obstante, todavía se desconoce qué ocurre con las propiedades de este recurso durante su manejo, así como su correcta gestión durante la ejecución de las obras, lo que permitiría optimizar la restauración de estos escenarios. En estos aspectos es en los que se centrará la presente Tesis Doctoral.

La tierra vegetal: recogida y extendido

La tierra vegetal procede de la capa más superficial de suelo, unos 30 cm de espesor, que se retira del trazado de la infraestructura antes de su construcción (Balaguer 2002). El valor de este recurso, respecto a capas de suelo más profundas, reside, como ya se ha comentado, en tres aspectos: su alto contenido en semillas autóctonas (Rokich et al.

2000; Holmes 2001; Tormo et al. 2007), la concentración de nutrientes (Balaguer 2002) y la importante comunidad microbiana que alberga (Visser et al. 1984). El banco de semillas del suelo, entendido como la agregación de semillas no germinadas que representa una gran reserva potencial de regeneración (Zhang et al. 2001), contribuyen al establecimiento de la vegetación autóctona y a la colonización y sucesión de las comunidades en la cubierta vegetal (Zhang et al. 2001; Balaguer 2002; Scoles y DeFalco 2003; Bote et al. 2005). Los microorganismos, por su parte, favorecen la incorporación de nutrientes al suelo, lo que a su vez contribuye al crecimiento de las plantas (Visser et al. 1984). Por estos motivos, la tierra vegetal ha sido empleada en la restauración de zonas perturbadas en el ámbito de la construcción de infraestructuras (Scoles y DeFalco 2003; Bote et al. 2005; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010; Mola et al. 2011) y en explotaciones mineras (Rokich et al. 2000; Zhang et al. 2001; Bowen et al. 2005; Hall et al. 2010).

Hasta el momento, poco se sabe de los factores que determinan la eficacia de la tierra vegetal para restaurar espacios afectados por grandes movimientos de tierra, aunque es previsible que dependa de sus propiedades físico-químicas y de los métodos empleados en la recogida, transporte, almacenamiento y extendido de la misma. Así por ejemplo, en ambientes estacionales como el mediterráneo, el contenido en semillas viables del banco es máximo al final del verano (Thompson y Grime 1983; Ortega et al. 1987), por lo que cabría esperar que el contenido en semillas de la tierra vegetal fuese máximo si se recogiese en esa época.

Respecto al almacenamiento de la tierra vegetal, tras su recogida se almacena en acopios o caballones de geometría trapezoidal que generalmente no superan los 2 m de altura, permaneciendo así hasta la finalización del proyecto constructivo. Para ello, es necesaria la expropiación temporal de terrenos próximos a la obra que, a menudo, ocupan grandes superficies en zonas que *a priori*, no se verían afectadas por el trazado de la obra. Sobre estos acopios, además, es frecuente que se realicen actuaciones dirigidas a mejorar la fertilidad de la tierra vegetal, como son la aplicación de fertilizaciones o el riego de los acopios (Balaguer 2002), aunque su efectividad aún no ha sido probada científicamente.

De manera similar, el extendido de tierra vegetal se realiza de forma estándar en capas de 30 cm de espesor (Balaguer 2002), aunque hasta el momento no se ha analizado con detalle el efecto de estas prácticas sobre la viabilidad de las semillas contenidas en la tierra vegetal. Las condiciones de temperatura, luz y humedad del suelo a las que las semillas se ven sometidas afectan a su supervivencia y capacidad de germinación (Baskin y Baskin 1998). En el caso de las semillas de herbáceas, se ha visto que la profundidad óptima a la que estas semillas son capaces de germinar y emerger a la superficie, es igual o inferior a 2 cm (Andrade et al. 1997; Torma y Hodi 2000; Traba et al. 2004). De esta forma, las semillas enterradas por debajo de esta profundidad es probable que, o no germinen, o si lo hacen no sean capaces de emerger a la superficie, reduciéndose la capacidad restauradora de la tierra vegetal (Rokich et al. 2000; Scoles y DeFalco 2003).

Debido a la pronunciada pendiente y compactación de los suelos de los desmontes frente a los de los terraplenes, los extendidos de tierra vegetal se suelen realizar sólo en los terraplenes, con el fin de evitar su acumulación en los arcenes de las vías debido a procesos erosivos. Es frecuente que el material recogido al inicio de la obra no sea suficiente para cubrir la superficie de los nuevos taludes generados con la infraestructura. Por esta razón, cuando en las obras no se dispone de un volumen suficiente de tierra vegetal, a menudo se utiliza tierra procedente de capas más profundas del suelo y de menor calidad. Esta mezcla de tierra vegetal con suelos de capas más profundas genera un empobrecimiento del sustrato y con ello una reducción de su eficacia en la restauración de estos espacios (Scoles y DeFalco 2003; Mola et al. 2011). En este contexto existen dos hipótesis enfrentadas. Por un lado, se defiende el extendido de capas de tierra vegetal de mayor espesor en los taludes, para mejorar la disponibilidad de nutrientes, la capacidad de retención de agua y aumentar la productividad vegetal y estabilización del suelo (Bowen et al. 2005). Y por otro lado, hay autores que defienden que una mayor potencia de tierra vegetal provocaría que tanto semillas como propágulos quedasen sepultados en profundidad (Rokich et al. 2000); disminuyendo la germinación de semillas hasta su inhibición a partir de los 10 cm de profundidad (Andrade et al. 1997; Torma y Hodi 2000; Traba et al. 2004).

Alineados con esta segunda hipótesis, en la presente Tesis Doctoral se estudia el uso de potencias de extendido de tierra vegetal menores a los 30 cm habitualmente empleados, con el objetivo de optimizar la tierra vegetal en obra para la restauración de los espacios afectados por la construcción de las infraestructuras lineales de transporte.

Alternativas a la tierra vegetal

La dificultad para obtener una cubierta vegetal estable en los taludes, debido entre otras cosas a la escasa calidad de los suelos (Andrés y Jorba 2000; Valladares y Alonso 2001; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010; Mola et al. 2011), hace que surja la necesidad de idear nuevas técnicas de restauración cuyo objetivo principal sea enriquecer los suelos. Tradicionalmente los suelos agrícolas han sido tratados con fertilizantes o abonos para mejorar su calidad. Los fertilizantes sintéticos, además de ser compuestos complejos y muy específicos, tienen un elevado coste que generalmente se compensa con la producción obtenida. En cambio, los abonos de origen animal o estiércoles, mejoran las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Ye et al. 2000; Edmeades 2003; Clemente et al. 2006; Barzegar et al. 2002; Burton y Turner 2003; Baker et al. 2011), siendo, a diferencia de los fertilizantes sintéticos, más económicos y excedentarios.

El estiércol mejora la fertilidad del suelo y favorece el crecimiento de las plantas mediante la adición de materia orgánica y nutrientes como carbono orgánico, nitrógeno, fósforo y potasio, aumenta el pH (Clemente et al. 2006; Dellaguardia 2010) y la actividad biológica del suelo (Edmeades 2003). Existen distintos tipos de estiércol animal cuyo uso ha sido probado en los últimos años para la restauración de suelos semiáridos (Ros et al. 2003) o antiguas explotaciones mineras (Chiu et al. 2006), aunque en taludes de carreteras se desconoce su efectividad.

Microorganismos del suelo y restauración

Como se ha comentado, el establecimiento de la vegetación es el paso más importante para estabilizar la estructura de los taludes. Sin embargo, no hay que olvidar que las comunidades vegetales están estrechamente relacionadas con los microorganismos del suelo. Estas interacciones planta-suelo tienen una gran influencia sobre la estructura y el

funcionamiento de los ecosistemas terrestres, siendo responsable en gran medida de la sucesión vegetal (Van Der Putten et al. 2009; García-Orenes et al. 2010). La relevancia de los microorganismos reside en su diversidad y en su gran espectro funcional, factores que repercuten generalmente en el desarrollo de las plantas (Acuña et al. 2006; Cornejo 2006). Los microorganismos intervienen en procesos vitales para el ecosistema, como la mineralización (ciclos geoquímicos del carbono, nitrógeno, fósforo, potasio y azufre), fertilización (humificación de la materia orgánica), estructuración del suelo y crecimiento vegetal. Por tanto, la restauración de espacios degradados pasa por conocer el efecto de las medidas tomadas sobre las comunidades microbianas del suelo y el papel de los microorganismos en la restauración de los ecosistemas.

En la literatura científica son diversos los estudios de sucesión primaria realizados en suelos bajo condiciones de estrés (Bardgett et al. 2007; Schmidt et al. 2008; García-Orenes et al. 2010), que han demostrado la importancia de los microorganismos en la restauración de los suelos y en el desarrollo de las comunidades vegetales.

En la restauración de zonas sometidas a una intensa perturbación, como las afectadas por explotaciones mineras, el establecimiento de la vegetación depende tanto de la efectividad de los microorganismos para aumentar la disponibilidad de los nutrientes en el suelo, como de su habilidad para permanecer en el suelo y establecer relaciones simbióticas (Abbott et al. 1992; Jasper 2007). La actividad microbiana puede cuantificarse a través de parámetros generales como son la respiración edáfica o la determinación del carbono y nitrógeno de la biomasa microbiana, entre otros; o mediante parámetros específicos, como la actividad enzimática, siendo éste un buen indicador del estado de los suelos (Ros et al. 2003; Zorzone et al. 2006). La respiración del suelo, que se centra en el intercambio de dióxido de carbono, ha sido ampliamente usada como índice de estimación de la actividad microbiana del suelo (Pascual et al. 1997; Acuña et al. 2006) y, en último término, del metabolismo global del ecosistema (Ryan y Law 2005). La producción de dióxido de carbono del suelo procede principalmente de la oxidación de la materia orgánica por los microorganismos y de la respiración de las raíces de las plantas (Jensen et al. 1996).

Descomposición de la hojarasca

Además de la importancia descrita de los microorganismos del suelo para favorecer el establecimiento de la cubierta vegetal en ambientes muy perturbados, estos organismos participan en procesos como la descomposición de la hojarasca, lo que podría contribuir a reducir la biomasa acumulada en los taludes.

Las comunidades microbianas (Witkamp 1966; Robertson y Paul 2000) y la microfauna del suelo (Hättenschwiler et al. 2005; Lemons et al. 2005) se encargan de la descomposición de la hojarasca. Este proceso es la principal vía de entrada de materia orgánica y nutrientes al suelo en los escenarios perturbados e inestables como son las áreas afectadas por las infraestructuras lineales (Forman y Alexander 1998; Cerdá 2007). En estos sistemas el reciclado de nutrientes es un factor muy importante para el establecimiento de la vegetación, al tratarse de suelos pobres en nutrientes (Albaladejo et al. 2000). Asimismo, al no haber presencia de grandes herbívoros en los taludes, con frecuencia se produce una gran acumulación de biomasa vegetal que a menudo es afectada por incendios locales, con el consiguiente peligro para los usuarios de las vías. Por ello, para reducir el riesgo de incendios, se llevan a cabo siegas periódicas (Wilson 1979), a menudo dirigidas por operarios que recorren la vía a pie, las cuales incrementan el riesgo de accidente y el coste de mantenimiento de las carreteras.

La importancia de los microorganismos del suelo, por tanto, radica no solo en el reciclado de nutrientes sino en aspectos con mayor interés industrial, como es su posible papel como descomponedores de la biomasa que se acumula en los taludes. De confirmarse una mayor actividad microbiana en presencia de tierra vegetal, se podrían tomar medidas para reducir el número y frecuencia de las actividades de acondicionamiento de los taludes (siegas), lo que supondría un gran ahorro para las empresas encargadas de la explotación y mantenimiento de las infraestructuras lineales.

Objetivos de la tesis y estructura

En la presente Tesis Doctoral se profundiza en algunos de los procesos que condicionan la eficacia de la tierra vegetal en la restauración de espacios afectados por infraestructuras lineales de transporte. Para ello se plantean distintos experimentos correspondientes a cada una de las fases de manejo de la tierra vegetal, es decir las relativas a la recogida, almacenamiento y extendido de la tierra vegetal. En estos experimentos, se evaluará el efecto del manejo de la tierra vegetal sobre los bancos de semillas, la cobertura vegetal, y las propiedades físico-químicas del suelo. También se llevará a cabo un experimento para estimar cómo se ven influidas las comunidades de microorganismos con el manejo de la tierra vegetal y su efecto sobre la tasa de descomposición de la hojarasca de especies habitualmente hidrosebradas en los taludes. Esta Tesis se estructura en cinco capítulos desde los que se abordan los distintos aspectos a desarrollar en los objetivos, antes presentados, para finalmente, emitir unas pautas de manejo para la optimización de este recurso.

Capítulo 1: Optimización de la tierra vegetal en la restauración de taludes

Bajo la hipótesis de que con el manejo de la tierra vegetal se modifican sus propiedades pudiendo llegar a condicionar su capacidad para restaurar las extensas superficies que se generan con la construcción de las infraestructuras lineales, en este capítulo se estudia cómo afectan la recogida y extendido de la tierra vegetal a las propiedades físico-químicas del suelo y al banco de semillas. Además, teniendo en cuenta la problemática existente en obra relativa a la escasez de tierra vegetal para la restauración de taludes, se evalúa también la alternativa de aplicar extendidos de tierra vegetal de 10 cm de espesor frente a los 30 cm que se emplean habitualmente en las prácticas de integración ambiental. Los resultados obtenidos se centrarán en aspectos relacionados con la cobertura vegetal, riqueza y composición florística.

Las preguntas que se abordan en este capítulo son: ¿la recogida y extendido de la tierra vegetal afecta a los bancos de semillas y a las propiedades físico-químicas del suelo?, ¿los extendidos de tierra vegetal favorecen el establecimiento de la cubierta vegetal en

los taludes? y ¿cómo afecta la potencia de extendido de la tierra vegetal a la cobertura, riqueza y composición florística de la cubierta?

Capítulo 2: El extendido de tierra vegetal favorece la restauración de los procesos ecológicos de los terraplenes: fertilidad del suelo y actividad microbiana

Tratando de explicar los resultados de los distintos manejos de la tierra vegetal explorados en el capítulo anterior, se estudiarán las relaciones planta-suelo a través de las propiedades físico-químicas del suelo y el funcionamiento de las comunidades microbianas. Las preguntas a las que se ha pretendido dar respuesta son: ¿el extendido de tierra vegetal así como su espesor, modifican los parámetros físico-químicos relacionados con la fertilidad del suelo?, ¿el extendido de tierra vegetal aumenta la actividad microbiana?, ¿el extendido de tierra vegetal disminuye la acumulación de necromasa? y ¿estos fenómenos se ven modificados por el volumen de tierra vegetal extendido?

Capítulo 3: Estiércol: una alternativa a la tierra vegetal en restauración

Ante la escasez de tierra vegetal, se plantea la necesidad de encontrar alternativas biológicas y rentables económicamente para favorecer la restauración de los taludes. Apoyándose en el uso tradicional de las enmiendas orgánicas como recurso para la mejora de las propiedades del suelo, en este capítulo se analiza la utilidad del estiércol de caballo como alternativa a la tierra vegetal y sus efectos sobre las propiedades físico-químicas y comunidades microbianas del suelo, la cobertura vegetal, riqueza y composición florística.

Las preguntas que se afrontan son: ¿cómo afecta el extendido de estiércol de caballo a la actividad microbiana y la cobertura, riqueza y composición florística de la cubierta vegetal? ¿es apropiado utilizar estiércol como alternativa a la tierra vegetal en la restauración de los taludes?

Capítulo 4: El destino de las semillas de herbáceas durante el acopio de tierra vegetal: potencial restaurador de los bancos de semillas

En capítulos anteriores se presentan los efectos sobre la cubierta vegetal, suelo y las comunidades microbianas de la recogida y extendido de la tierra vegetal. La importancia del acopio de la tierra vegetal sobre el resultado observado en las parcelas experimentales, sin embargo, no se ha considerado en los trabajos. Los acopios de tierra vegetal pueden permanecer durante largos periodos de tiempo en las proximidades de las obras pudiéndose producir pérdidas de la capacidad restauradora de este recurso. Con el fin de determinar qué factores y de qué modo el acopio de tierra vegetal podría estar alterando las propiedades de las semillas contenidas, se estudió el efecto de la profundidad de enterramiento y el tiempo de almacenamiento de las semillas sobre su supervivencia, germinación y mortalidad. Además, se relaciona la supervivencia de las semillas con caracteres funcionales propios de cada especie, mediante el enterramiento de bolsas con semillas recogidas para una selección de especies.

Las preguntas que se han planteado en este capítulo son las siguientes: ¿cuáles son los efectos del tiempo y la profundidad de enterramiento en el porcentaje de supervivencia, germinación y mortalidad de las semillas?, ¿cuáles son los efectos del tiempo y la profundidad de enterramiento sobre la capacidad de germinación de las semillas que sobreviven después del almacenamiento de tierra vegetal en el acopio?, ¿están estos parámetros relacionados con caracteres funcionales de las semillas tales como el peso de ésta o su respuesta germinativa a la luz y a la oscilación térmica? y ¿cómo varían las condiciones ambientales del acopio (temperatura, humedad del suelo, oscilación térmica diaria) en función del tiempo y la profundidad?

Capítulo 5: ¿La tierra vegetal acelera la descomposición de la hojarasca en los taludes?

La acumulación de biomasa vegetal en los taludes, fundamentalmente en los terraplenes sobre los que se suelen hacer extendidos de tierra vegetal, supone un elevado coste para las empresas, tanto económico, limpieza de cunetas y canales de drenaje, como ambiental, riesgo de incendios, no asumible por las empresas concesionarias de las

infraestructuras lineales. Además, éstos suponen grandes problemas de seguridad para los usuarios de las vías.

Para favorecer el crecimiento de las plantas y por tanto, conferir estabilidad a los taludes evitando los desprendimientos se suelen aplicar técnicas de hidrosiembra. No obstante, la gran cantidad de biomasa acumulada hace necesario que se replantee las especies seleccionadas en dichas hidrosiembras. Por ello, en este capítulo se estudia cuáles de las especies frecuentemente incluidas en las mezclas de las hidrosiembras son más apropiadas para reducir esta acumulación de necromasa en los taludes.

Las preguntas a las que se pretende dar respuesta son: ¿el tipo de talud condiciona la tasa de descomposición de la hojarasca de cuatro gramíneas y cuatro leguminosas habitualmente hidrosebradas? y ¿se puede predecir la tasa de descomposición en base a la composición química de la hojarasca?

Zonas de estudio

Para realizar los objetivos de la presente Tesis Doctoral se han diseñado varios experimentos en distintas zonas de la Comunidad de Madrid (Figura 2). Para poder llevar a cabo los Capítulos 1, 2 y 3 fue necesario disponer de taludes en construcción sobre los que realizar extendidos de tierra vegetal, lo que motivó la elección de la línea de tren de cercanías en construcción que une los términos municipales de Navalcarnero y Móstoles. Para alcanzar los objetivos concretos del Capítulo 4 fue necesario un acopio longitudinal de tierra vegetal que se construyó específicamente para este estudio en un terreno cedido por la Universidad Autónoma en el Campus de Cantoblanco. El experimento recogido en el Capítulo 5, se realizó en los taludes de una carretera próxima a Madrid de reciente construcción, la circunvalación de El Molar de la autovía A-1 construida en 2009.



Figura 2: Mapa de la Comunidad de Madrid y ubicación de las tres zonas de estudio seleccionadas en la presente Tesis: El Molar, Campus de Cantoblanco (UAM) y Navalcarnero (Fuente: Google Earth).

Línea de cercanías en construcción entre Navalcarnero y Móstoles - Capítulos 1, 2 y 3

El área de estudio se localizó en la Dehesa de Mari Martín, en el término Municipal de Navalcarnero (40° 18' N; 3° 58' O) al oeste de Madrid. La zona experimental se ubicó en la línea del tren de cercanías en construcción que une los términos municipales de Móstoles y Navalcarnero, sobre arenas terciarias procedentes de la erosión de la granítica Sierra de Guadarrama. El terraplén experimental se encuentra en un talud paralelo a los originados en la propia infraestructura, en cuya base se encuentra un arroyo. La zona presenta un relieve ligeramente ondulado y la vegetación dominante es un pinar de reforestación (*Pinus pinaster*). El clima es mediterráneo semiárido con inviernos fríos y veranos secos. Las temperaturas medias mínima y máxima son 9 y 20°C, respectivamente, con una precipitación media anual de 450 mm (AEMET. Media histórica de 1971-2000).

Acopio de tierra vegetal situado en el Campus de Cantoblanco de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) – Capítulo 4

El área de estudio se ubica al noroeste de Madrid (España, 40° 32' 39'' N; 3° 41' 10'' O), en una zona de pastos abandonados sobre areniscas, conglomerados y arcillas de carácter ácido. La precipitación media anual es de 400 mm con una temperatura media mínima y máxima de 7,6 y 21°C, respectivamente (AEMET. Media histórica de 1971-2000). Se trata de una zona adyacente a la Dehesa de Valdelatas cuya vegetación dominante es un bosque de repoblación de pinos y encinas con un sotobosque rico en jaras. En Septiembre de 2009 en una zona desarbolada y adyacente a la dehesa, se construyó con ayuda de una retroexcavadora un acopio experimental de 30 m de longitud y 1,5 m de altura, en el que se estudiaría el efecto del tiempo de almacenamiento y la profundidad de enterramiento sobre la viabilidad de las semillas (Capítulo 4).

Circunvalación de El Molar, en la autovía A-1 (Madrid) - Capítulo 5

En El Molar, población situada al norte de Madrid (40° 44' 24'' N - 3° 34' 54'' O) a 820 m.s.n.m., se seleccionaron 4 desmontes y 4 terraplenes de la circunvalación la autovía

A-1 construida entre 2008-2009. Dicha carretera se encuentra asentada sobre cuarcitas, pizarras, arenas y arcillas. La vegetación de la zona es un mosaico de campos de cultivo abandonados y pastos de especies anuales, con algunos remanentes de bosques abiertos de *Quercus ilex* subs. *ballota*. El área tiene clima mediterráneo, con una precipitación anual media de 540 mm y una temperatura media de 13,7 y 6,8°C. Los taludes seleccionados (4 desmontes y 4 terraplenes) mantenían una orientación similar (este) y unas dimensiones mínimas de 7 m de altura y 30 m de longitud. Todos los terraplenes, de acuerdo con el anejo ambiental del proyecto, fueron cubiertos con una capa de tierra vegetal de unos 30 cm sobre la que se aplicó una hidrosiembra con leguminosas y gramíneas.

Metodologías experimentales

Para alcanzar los objetivos planteados en esta Tesis Doctoral han sido necesarios numerosos y variados muestreos de campo, así como un posterior procesamiento y análisis de las muestras en el laboratorio.

Entre las técnicas experimentales desarrolladas en el campo se encuentran:

- recogida de semillas en la dehesa de Moncalvillo (municipio de Guadalix de la Sierra) a principios de verano para llevar a cabo los experimentos del Capítulo 4,
- enterramiento de las bolsas de semillas a distintas profundidades en el acopio experimental situado en el campus Universitario de la UAM
- desenterramiento de las bolsas de semillas mensualmente durante 6 meses y procesamiento de las mismas en el laboratorio,
- muestreos de vegetación en las parcelas experimentales situadas en la línea de cercanías de Navalcarnero, durante dos primaveras,
- extracción de los bancos de semillas en las parcelas experimentales de la línea de cercanías de Navalcarnero, así como de los acopios de tierra vegetal,

- recogida de muestras de suelo para los análisis físico-químicos en las parcelas experimentales de la línea de cercanías de Navalcarnero y en los taludes experimentales de la circunvalación de El Molar,
- medición mensual de la respiración edáfica durante un año en las parcelas experimentales de Navalcarnero.
- recogida de la biomasa acumulada en los taludes de la circunvalación de El Molar,
- anclaje de las bolsas de hojarasca en los taludes experimentales de la circunvalación de El Molar,
- extracción en tres ocasiones durante un año de las bolsas de hojarasca de cada talud, y
- recogida de tierra de los taludes experimentales de la circunvalación de El Molar para llevar a cabo el experimento de descomposición en condiciones controladas llevado a cabo en los invernaderos de la UAM

En cuanto al trabajo realizado en el laboratorio, este comprende:

- limpieza de semillas y confección de las bolsas de nylon para los experimentos de enterramiento de semillas en el acopio de tierra vegetal situado en el Campus de la UAM,
- procesamiento de las bolsas de semillas tras su extracción (limpieza, separación y recuento de las semillas),
- control diario de la germinación de las semillas en las cámaras de germinación durante 21 días seguidos a lo largo de 6 meses consecutivos,
- confección de las bolsas para el experimento de descomposición,
- limpieza y procesamiento (secado y pesado) de la hojarasca recogida en las bolsas de descomposición,
- triturado mecánico de muestras de biomasa para el análisis de la composición química,
- procesamiento de las muestras de suelo para su posterior análisis físico-químico,

-
- análisis de actividad enzimática de las muestras de suelo recogidas en las parcelas experimentales de la línea de cercanías de Navalcarnero, y
 - preparación de los suelos para el estudio de los bancos de semillas. Los bancos de semillas extraídos para los experimentos incluidos en la presente Tesis Doctoral se ubicaron en los invernaderos del Departamento de Ecología de la UAM, donde se mantuvieron durante al menos un año y medio. En estos invernaderos se regaron las muestras de suelo y las plantas germinadas se identificaron a nivel de especie.

Los análisis físico-químicos de los suelos se realizaron en un laboratorio externo, Laboratorio Agroalimentario de Granada. Los análisis de la composición química de las muestras de vegetación se realizaron en el Servicio Interdepartamental de Investigación de la UAM, y su contenido en celulosa, hemicelulosa y lignina se analizó en el Laboratorio del Departamento de Producción Animal de la ETSI Agrónomos de la UPM.

Parte del estudio del efecto de la tierra vegetal sobre la descomposición de la hojarasca se llevó a cabo en condiciones controladas en los invernaderos de la Facultad de Ciencias en el Campus de la Universidad Autónoma de Madrid.

Referencias

Abbott, L.K., Robson, A.D., Gazey, C. 1992. Selection of inoculant vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: Norris J.R., Read D.J., Varma A.K. (Eds.) *Methods in Microbiology*, 24. Techniques for the study of mycorrhiza Academic Press, London. 1-21.

Acuña, O., Peña, W., Serrano, E., Pocasangre, L., Rosales, F., Delgado, E., Trejos, J., Segura, A. 2006. La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos. XVII Reuniao International da Associacao para a Cooperacao nas Pesquisas sobre Banana no Caribe e na América Tropical, 222-233.

- Albaladejo, J., Alvarez, J., Querejeta, J., Díaz, E., Castillo, V. 2000. Three hydro-seeding revegetation techniques for soil erosion control on anthropic steep slopes. *Land Degradation and Development*, 11, 315-325.
- Alborch, B., García-Fayos, P., Bochet, E. 2003. Estimación de los filtros ecológicos que controlan la colonización de taludes de carretera a partir del estudio del banco de semillas del suelo. *Ecología*, 17, 65-75.
- Andrade, M.A., Pereira, D.D., Dornelas, G.V., Santos E.S.D. 1997. Influence of position and depth of sowing in the germination of seeds of *Caesalpinia leiostachya* Ducke. *Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi, Serie Botánica*. 11, 43-53.
- Andrés, P., Jorba, M. 2000. Mitigation strategies in some motorway embankments (Catalonia, Spain). *Restoration Ecology*, 8 (3), 268–275.
- Arnáez, J., Larrea, V. 1995. Erosion processes and rates on road-sides of hill-roads (Iberian system, La Rioja, Spain). *Physics and Chemistry of the Earth*, 20, 395-401.
- Balaguer, L. 2002. Las limitaciones de la restauración de la cubierta vegetal. *Ecosistemas*, 11, 72-82.
- Baker, L.R., White, P.M., Pierzynski, G.M. 2011. Changes in microbial properties after manure, lime, and bentonite application to a heavy metal-contaminated mine waste. *Applied Soil Ecology*, 48, 1-10.
- Bardgett, R.D., Richter, A., Bol, R., Garnett, M.H., Bäumler, R., Xu, X., Lopez-Capel, E., Manning, D., Hobbs, P.J., Hartley, I.R., Wanek, W. 2007. Heterotrophic microbial communities use ancient carbon following glacial retreat. *Biology Letters*, 3, 487-490.
- Barzegar, A.R., Yousefi, A., Daryshenas, A. 2002. The effect of addition of different amounts and types of organic materials on soil physical properties and yield of wheat. *Plant and Soil*, 247, 295-301.

Baskin, C.C., Baskin, J.M. 1998. *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, New York.

Benik, S.R., Wilson, B.N., Biesboer, D.D., Hansen, B., Stenlund, D. 2003. Evaluation of erosion control products using natural rainfall events. *Journal of Soil Water Conservation*, 58, 98-105.

Bochet, E., García-Fayos, P. 2004. Factors controlling vegetation establishment and water erosion on motorway slopes in Valencia, Spain. *Restoration Ecology*, 12, 166-174.

Bochet, E., García-Fayos, P., Tormo, J. 2010a. How can we control erosion of roadslopes in semiarid Mediterranean areas? Soil improvement and native plant establishment. *Land Degradation & Development*, 21, 110-121.

Bochet, E., Tormo, J., García-Fayos, P. 2010b. Native species for roadslope revegetation: Selection, validation and cost effectiveness. *Restoration Ecology*, 18 (5), 656-663.

Bote, D., Valladares, F.J., Matesanz, S., Tena, D. 2005. Importancia de la tierra vegetal en la vegetación de desmonte. *Ciencia y Técnica*, 80, 19-24.

Bowen, C.K., Schuman, G.E., Olson, R.A., Ingram, L.J. 2005. Influence of topsoil depth on plant and soil attributes of 24-year old reclaimed mined lands. *Arid Land Research and Management*, 19, 267-284.

Burton, C.H., Turner, C. 2003. *Manure management: treatment strategies for sustainable agricultura*. Editions Quae, 451 pp.

Cerdá, A. 2007. Soil water erosion on road embankments in eastern Spain. *Science of the Total Environment*, 378, 151-155.

Chiu, K.K., Ye, Z.H., Wong, M.H. 2006. Growth of *Vetiveria zizanioides* and *Phragmites australis* on Pb/Zn and Cu mine tailings amended with manure compost and sewage sludge: A greenhouse study. *Bioresource Technology*, 97, 158-170.

Clemente, R., Almela, C., Bernal, M.P. 2006. A remediation strategy based on active phytoremediation followed by natural attenuation in a soil contaminated by pyrite waste. *Environmental pollution*, 143(3), 397-406.

Cornejo, P.E. 2006. *Influencia de la cobertura vegetal sobre la diversidad y estructura de las comunidades de hongos micorrícicos y sus efectos en la estabilización de suelos degradados*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias.

Dellaguardia, C.S. 2010. *Management, uses and environmental impacts*. Nova Science Pub Inc, 198 pp.

Dudeck, A.E., Young, J.O. 1970. Performance of crownvetch and selected cool season grasses on roadside backslopes as affected by slope exposure and nitrogen fertilization. *Agronomy Journal*, 3, 397-401.

Edmeades, D. 2003. The long-term effects of manures and fertilisers on soil productivity and quality: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 66, 165-180.

European Union Road Federation (ERF). 2010. European Road Statistics. http://www.erf.be/images/stories/Statistics/2010/ERF_European_Road_Statistics_2010.pdf. Diciembre 2011.

European Union 2011. *EU transport in figures, Statistical Pocketbook 2011*. Publications Office of the European Union.

Fenner, M., Thompson, K. 2005. *The ecology of seeds*. Cambridge University Press.

Foley, A.J., DeFries, R., Asner, G.P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S.R., Chapin, F. S., Coe, M.T., Daily, G. C., Gibbs, H.K., Helkowski, J.H., Holloway, T., Howard, E.A., Kucharik, C.J., Monfreda, C., Patz, J.A., Prentice, I.C., Ramankutty, N., Snyder, P.K. 2005. Global consequences of land use. *Science*, 309, 570-574.

Forman, R.T.T. 2000. Estimate of the area affected ecologically by the road system in the United States. *Conservation Biology*, 14, 31-35.

Forman, R.T.T., Alexander, L.E. 1998. Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 29, 207-231.

García-Fayos, P., García-Ventoso, B., Cerdà, A. 2000. Limitations to plant establishment on eroded slopes in southeastern Spain. *Journal of Vegetation Science*, 11, 77-86.

García-Orenes, F., Guerrero, C., Roldán, A., Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Campoy, M., Zornoza, R., Bárcenas, G., Caravaca, F. 2010. Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid mediterranean agroecosystem. *Soil & Tillage Research*, 109, 110-115.

García-Palacios, P., Soliveres, S., Maestre, F.T., Escudero, A., Castillo-Monroy, A.P., Valladares, F. 2010. Dominant plant species modulate responses to hydroseeding, irrigation and fertilization during the restoration of semiarid motorway slopes. *Ecological Engineering*, 36, 1290-1298.

Hall, S.H., Barton, C.D., Baskin, C.C. 2010. Topsoil seed bank of an Oak-Hickory forest in eastern Kentucky as a restoration tool on surface mines. *Restoration Ecology*, 18, 834-842.

Hätternschwiler, S., Tiunov, A.V., Scheu, S. 2005. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 36, 191-218.

Holl, K.D. 2002. Long-term vegetation recovery on reclaimed coal surface mines in the eastern USA. *Journal of Applied Ecology*, 39, 960-970.

Holmes, P.M. 2001. Invasion and mining: Effects of topsoil depth, seed source, and fertilizer addition. *Restoration Ecology*, 9, 71-84.

Jasper, D.A. 2007. Beneficial soil microorganisms of the jarrah forest and their recovery in bauxite mine restoration in southwestern Australia. *Restoration Ecology*, 15, 4 (supplement), 74-84.

- Jensen, L.S., Mueller, T. Tate, K.R., Ross, D.J., Magid, J., Nielsen, N.E. 1996. Soil surface CO₂ flux as an index of soil respiration in situ: a comparison of two chamber methods. *Soil Biology & Biochemistry*, 28, 1297-1306.
- Jim, C.Y. 2001. Ecological and landscape rehabilitation of a quarry site in Hong Kong. *Restoration ecology*, 1, 85-94.
- Jochimsen, M.E. 2001. Vegetation development and species assemblages in a long-term reclamation project on mine spoil. *Ecological Engineering*, 17, 187-198
- Lambin, E.F., Turner, B.L., Helmut, J.G., Agbola, S.B., Angelsen, A., Bruce, J.W., Coomes, O.T., Dirzo, R., Fischer, G., Folke, C., George, P.S., Homewood, K., Imbernon, J., Leemands, R., Li, X., Moran, E.F., Mortimore, M., Ramakrishnan, P.S., Richards, J.F., Skanes, H., Steffen, W., Stone, G.D., Svedin, U., Veldkamp, T.A., Vogel, C., Xu, J. 2001. The causes of land-use and land-cover change: moving beyond the myths. *Global Environmental Change*, 11, 261-269.
- Lemons, A., Clay, K., Rudgers, J.A. 2005. Connecting plant-microbial interactions above endophyte affects decomposition. *Oecologia*, 145, 595-604.
- Martínez-Alonso, C., Valladares, F. 2002. La pendiente y el tipo de talud alteran la relación entre la riqueza de especies y la cobertura de las comunidades herbáceas. *Ecología*, 16, 59-71.
- Matesanz, S., Valladares, F., Tena, D., Costa-Tenorio, M. 2005. Rasgos biogeográficos, florísticos y ecológicos de comunidades herbáceas en taludes de carretera al sur de España. *Ecología*, 19, 97-102.
- Matesanz, S., Valladares F.J., Tena D., Costa-Tenorio, M., Bote, D. 2006. Early dynamics of plant communities on revegetated motorway slopes from southern Spain: Is hydroseeding always needed? *Restoration Ecology*, 14, 297-307.

-
- Mitchell, D.J., Barton, A.P., Fullen, M.A., Hocking, T.J., Zhi, W.B., Zheng, Y. 2003. Field studies of the effects of jute geotextiles on runoff and erosion in Shropshire, UK. *Soil Use and Management*, 19, 182-184.
- Mola, I., Jiménez, M.D., López-Jiménez, N., Casado, M.A., Balaguer, L. 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: Management options under schedule pressure. *Restoration Ecology*, 19, 83-92.
- Montalvo, A.M., McMillan, P.A., Allen, E.B. 2002. The relative importance of seeding method, soil, ripping, and soil variables on seeding success. *Restoration Ecology*, 10(1), 52-67.
- Muzzi, E., Roffi, F., Sirotti, M., Bagnaresi, U. 1997. Revegetation techniques on clay soil slopes in northern Italy. *Land Degradation and Development*, 2, 127-137.
- Nicolau, J.M. 2002. Runoff generation and routing on artificial slopes in a Mediterranean–continental environment: the Teruel coalfield, Spain. *Hydrological Processes*, 16, 631–647.
- Ortega, M., Levassor, C., Peco, B. 1987. Seasonal dynamics of Mediterranean pasture seed banks along environmental gradients. *Journal of Biogeography*, 24, 177-195.
- Pascual, J.A., Hernandez, T., Ayuso, M., García, C. 1997 Changes in the microbial activity of arid soils amended with urban organic wastes. *Biology and Fertility of Soils*, 24, 429–434.
- Patzelt, A., Wild, U., Pfadenhauer, J. 2001. Restoration of wet fen meadows by topsoil removal: vegetation development and germination biology of fen species. *Restoration Ecology*, 9, 127-136.
- Rickson, R.J. 2006. Controlling sediment at source: an evaluation of erosion control geotextiles. *Earth Surface Processes and Landforms*, 31, 550-560.

- Robertson, G.P., Paul, E.A. 2000. Decomposition and soil organic matter dynamics. In: Osvaldo, E.S., Jackson, R.B., Mooney, H.A., Howart, R. (Eds.). *Methods in Ecosystem Science*. Springer Verlag, New York, USA, 104-116.
- Rokich, D.P., Dixon, K.W., Sivasithamparam, K., Meney, K.A. 2000. Topsoil handling and storage effects on woodland restoration in Western Australia. *Restoration Ecology*, 8, 196-208.
- Ros, M., Hernandez, M.T., García, C. 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 463-469.
- Ryan, M.G., Law, B.E. 2005. Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry*, 73, 3-27.
- Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto, J.J., Berlow, R., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M., Wall, D.H. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287, 1770-1774.
- Schmidt, S.K., Reed, S.C., Nemergut, D.R., Grandy, A.S., Cleveland, C.C., Costello, E.K., Weintraub, M.N., Hill, A.W., Meyer, A.F., Martin, A.P., Neff, J.C. 2008. The earliest stages of ecosystem succession in high-elevation (5000 meters above sea level), recently de-glaciated soils. *Proceedings of the Royal Society*, 275, 2793-2802.
- Scoles, S.J., DeFalco, L.A. 2003. The revegetation of disturbed areas associated with roads at Lake Mead National Recreation Area. Nevada. Report prepared for National Park Service. Lake Mead National Recreation Area. 11pp. (Technical Report).
- Sheldon, J.C., Bradshaw, A.D. 1977. Development of a hydraulic seeding technique for unstable sand slopes. 1. Effects of fertilizers, mulches and stabilizers. *Journal of Applied Ecology*, 3, 905-918.

Thompson, K., Grime, J.P. 1983. A comparative study of germination responses to diurnally fluctuating temperatures. *Journal of Applied Ecology*, 20, 141-156.

Torma, M., Hodi, L., 2000. Reproduction biology of Yellow Mignonette (*Reseda lutea* L.). *Journal of Plant Diseases and Protection*, S7, 159-165.

Tormo, J., Bochet, E., García-Fayos, P. 2007. Roadfill revegetation in semiarid mediterranean environments. Part II: Topsoiling, species selection, and hydroseeding. *Restoration Ecology*, 15, 97-102.

Tormo, J., Bochet, E., García-Fayos, P. 2009. Restauración y revegetación de taludes de carreteras en ambientes Mediterráneos semiáridos: procesos edáficos determinantes para el éxito. *Ecosistemas*, 18, 79-90.

Traba, J., Azcárate, F.M., Peco, B. 2004. From what depth do seeds emerge? A soil seed bank function experiment with Mediterranean grassland species. *Seed Science Research*, 14, 297-303.

Trombulak, S.C., Frissell, C.A. 2000. Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. *Conservation Biology*, 14(1), 18-30.

Valladares, F., Alonso, C. 2001. Análisis ecológico de las medidas de revegetación de los taludes de la autopista de la Costa del Sol (Tramo A). Informe del proyecto TALMED (Ferrovia-Agroman, S.A.-CSIC).

Van Der Putten, W.H., Bardgett, R.D., De Ruiter, P.C., Hol, W.H.G., Meyer, K.M., Bezemer, T.M., Bradford, M.A., Christensen, S., Eppinga, M.B., Fukami, T., Hemerik, L., Molofsky, J., Schädler, M., Scherber, C., Strauss, S.Y., Vos, M., Wardle, D.A. 2009. Empirical and theoretical challenges in aboveground-belowground ecology. *Oecologia*, 161, 1-14.

Visser, S., Fujiikawa, J., Griffiths, C.L., Parkinson, D. 1984. Effect of topsoil storage on microbial activity, primary production and decomposition potential. *Plant and Soil*, 82, 41-50.

- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J., Melillo, J.M. 1997. Human domination of Earth's ecosystems. *Science*, 277, 494-499.
- Wilson, C.C. 1979. Roadsides – corridors with high fire hazard and risk. *Journal of Forestry*, 77, 576-580.
- Witkamp, M. 1966. Decomposition of leaf litter in relation to environment, microflora and microbial respiration. *Ecology*, 47, 194-201.
- Ye, Z.H., Wong, J.W.C., Wong, M.H. 2000. Vegetation response to lime and manure compost amendments on acid Lead/Zinc mine tailings: A greenhouse study. *Restoration Ecology*, 8(3), 289-295.
- Xu, C., Ye, H., Cao, S. 2011. Constructing China's greenways naturally. *Ecological Engineering*, 37, 401-406.
- Zhang, Z.Q., Shu, W.S., Lan, C.Y., Wong, M.H. 2001. Soil seed bank as an input of seed source in revegetation of lead/zinc mine tailings. *Restoration Ecology*, 9, 378-385.
- Zorzona, R., Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Arcenegui, V., García-Orenes, F., Mataix-Beneyto, J. 2006. Assessing air-drying and rewetting pre-treatment effect on some soil enzyme activities under Mediterranean conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 2125-2134.

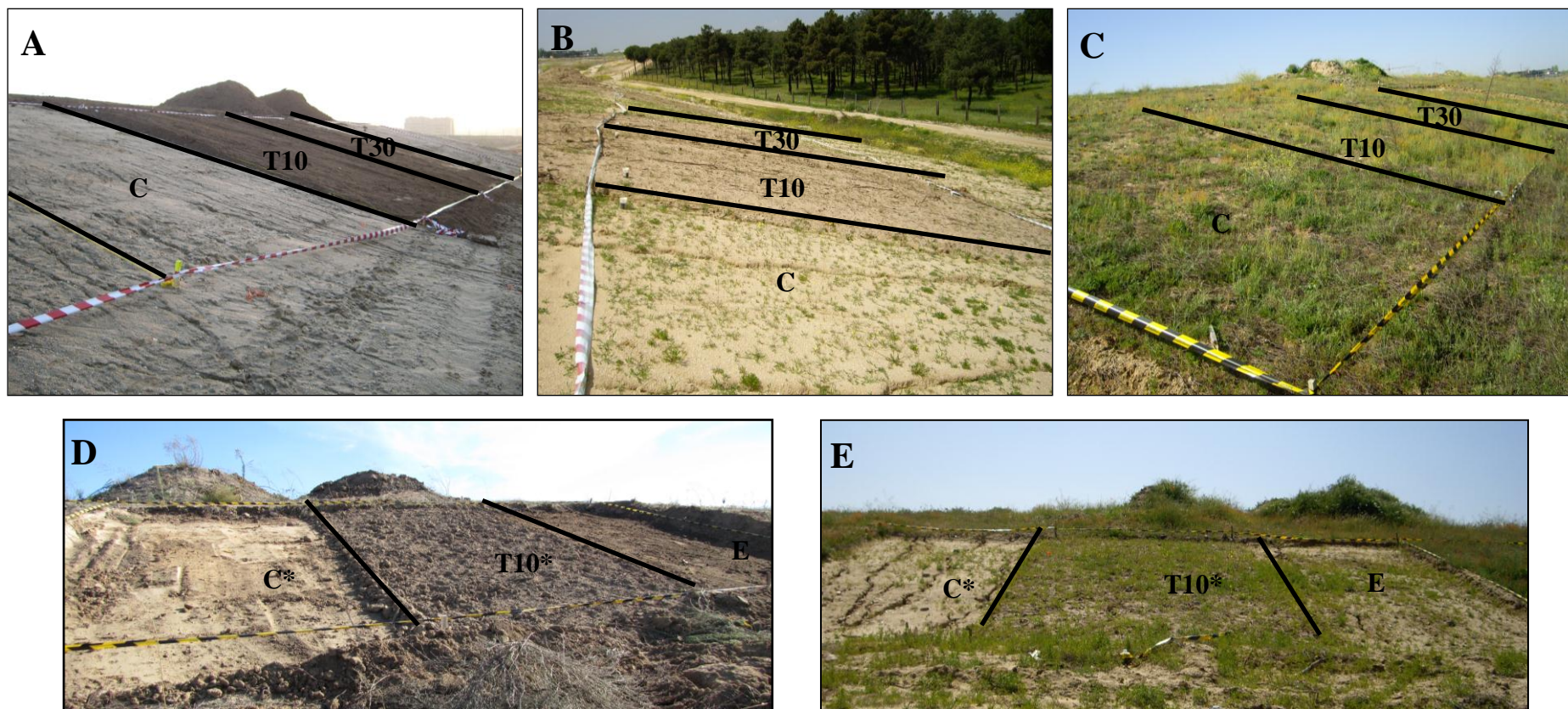


Figura 2: A, B y C, Parcelas experimentales en Navacarnero para los experimentos de los Capítulos 1 y 2, con tratamiento control (C), tierra vegetal a 10 cm (T10) y tierra vegetal a 30 cm (T30). D y E, parcelas para el experimento del Capítulo 3 con extendido de tierra vegetal a 10 cm (T10*), extendido de estiércol (E) además, del control (C*). A, Parcelas recién extendidas en diciembre de 2009; B, estado de las parcelas en abril de 2010; C, en Abril de 2011; D, Parcelas recién extendidas en octubre de 2010; y E, parcelas en abril de 2011.



Figura 3: A, Acopio de tierra vegetal en el Campus de Cantoblanco una vez establecidas las bolsas con semillas; B, bolsas con semillas a 30 y 50 cm de profundidad; C, detalle de las tras 6 meses de almacenamiento; y D, semillas en placas de Petri para su disposición en la cámara de germinación (Capítulo 5).

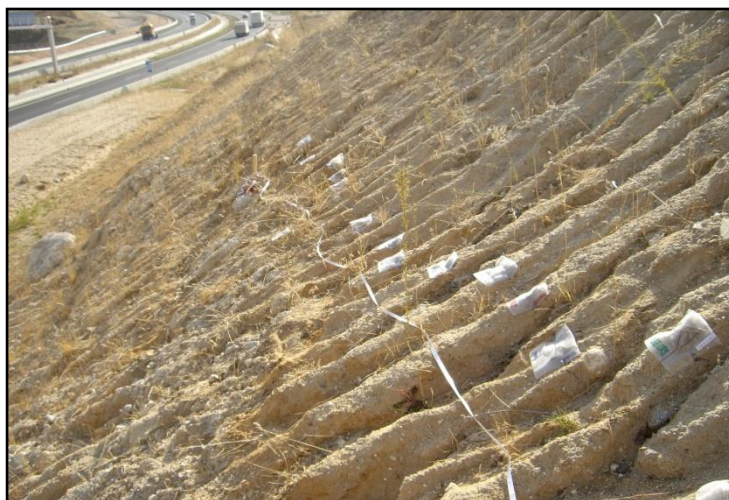


Figura 5: Disposición de las bolsas de descomposición en uno de los desmontes (A) y terraplenes (B) de El Molar (Capítulo 6); C, muestras de biomasa de una de las extracciones tras el proceso de la mufla.

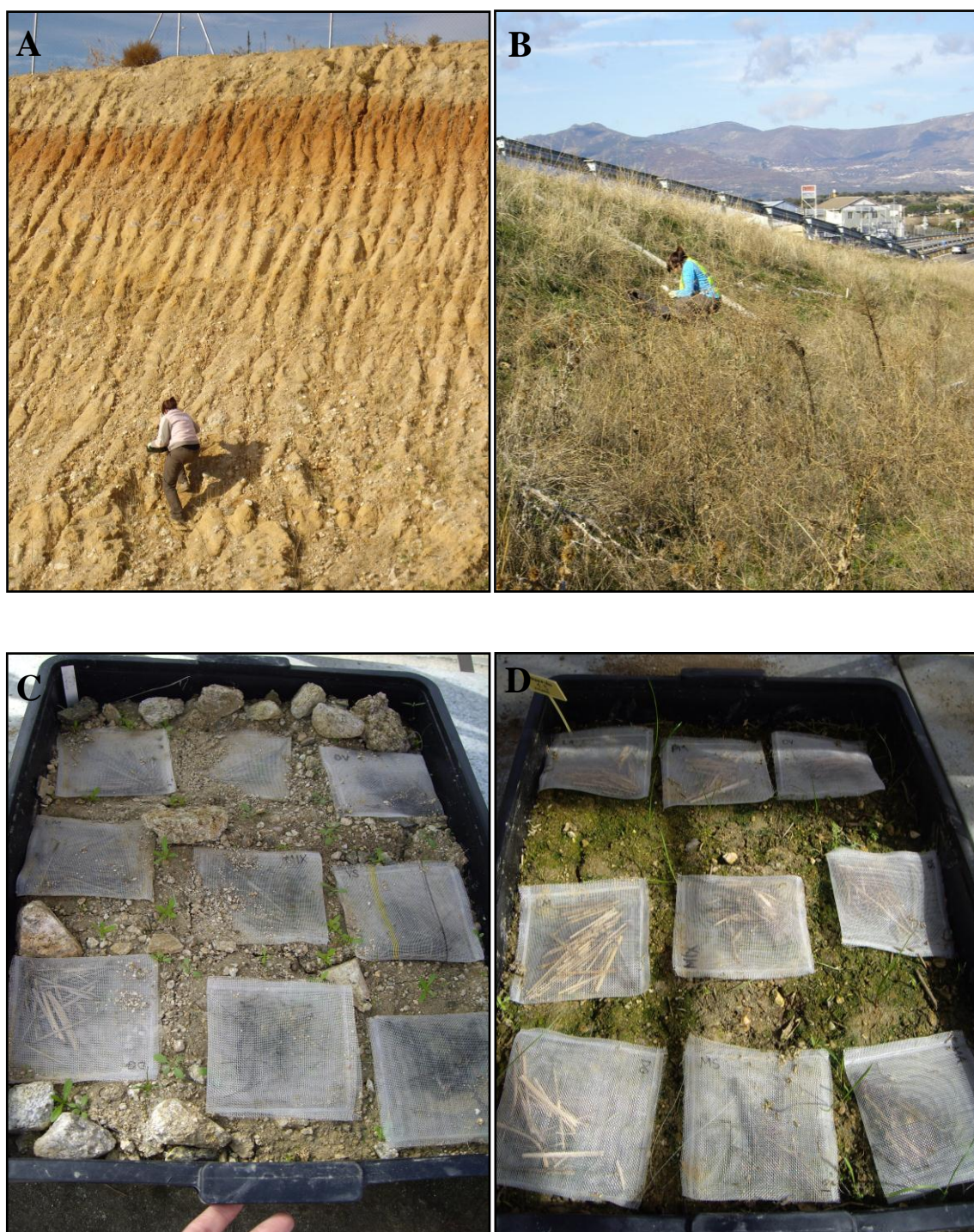


Figura 6: Recogida de los suelos en las bandejas del mesocosmos en un desmonte (A) y un terraplén (B) de El Molar. Detalle de las bolsas de biomasa en las bandejas con tierra de desmonte (C) y de terraplén (D)

.

CAPÍTULO 1

OPTIMIZACIÓN DE LA TIERRA VEGETAL EN LA RESTAURACIÓN DE TALUDES

Este capítulo reproduce íntegramente el siguiente manuscrito:

Rivera, D., Jáuregui, B. M., Costa-Tenorio, M., Peco, B. Optimization of topsoil in restoring roadslopes. (En preparación).



OPTIMIZACIÓN DE LA TIERRA VEGETAL EN LA RESTAURACIÓN DE TALUDES

Resumen

El extendido de tierra vegetal sobre suelos degradados es una medida ampliamente utilizada en la restauración de taludes de carreteras. La optimización de este escaso recurso en obra depende de su manejo. El primer objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del manejo sobre el banco de semillas y las propiedades físico-químicas del suelo. Para ello, se tomaron datos de los bancos de semillas y las propiedades del suelo antes de la recogida de la tierra vegetal y tras el extendido de ésta. Además, se evaluó experimentalmente el efecto del extendido de tierra vegetal con potencias de 10 cm y de 30 cm (habituales en restauración) sobre la cobertura, riqueza y composición florística de la cubierta vegetal de los terraplenes. En este caso, se establecieron 15 parcelas experimentales en el centro de España en las que se consideraron dos tratamientos distintos (10 cm y 30 cm de tierra vegetal) y un control para testar su efecto. En los primeros 5 cm del banco de semillas se localizaron el 90% de las semillas viables. Con la recogida y extendido de la tierra vegetal se produce una dilución de este banco que resulta en una pérdida del 70% de semillas viables y un empobrecimiento (contenido en materia orgánica, N, K y agua útil) y acidificación del suelo. Tras el extendido de tierra vegetal, la cobertura de herbáceas fue mayor en las parcelas control que en presencia de tierra vegetal debido a la dominancia de las especies *Polygonum aviculare*, *Spergularia purpurea* y *Anthemis arvensis*. El segundo año, la cobertura de herbáceas y riqueza de especies se homogeneizó en todos los tratamientos debido al aporte de semillas de las zonas próximas. Se concluye que: i) la tierra vegetal se empobrece en su recogida y extendido, ii) la aplicación de tierra vegetal aumenta la riqueza específica de los taludes a restaurar, iii) extendidos menores de tierra vegetal (10 cm) a los habitualmente empleados en la construcción (30 cm) no modifican significativamente los resultados en cobertura, riqueza y composición florística; iv) recoger capas más finas de tierra vegetal que las que actualmente se recomienda y hacerlo a finales de verano y principios de

otoño aumentaría el potencial restaurador de este demandado recurso.

Palabras clave: banco de semillas, cobertura vegetal, composición florística, diversidad, propiedades físico-químicas, terraplén.

OPTIMIZATION OF TOPSOIL IN RESTORING ROADSLOPES

Abstract

The spreading of topsoil over degraded land is widely employed during the restoration of roadslopes. Optimising the use of this scarce resource in construction works depends on how it is handled. The present study aims to examine the effects of handling of topsoils on viable seed content and physico-chemical soil properties. We also experimentally assess the effects of depth of topsoil spread on plant cover, species diversity and floristic composition of the vegetation of embankments. Seed banks and soil properties both before topsoil collection and after its application were examined. Additionally, 15 experimental plots were established in a railway embankment in central Spain, where two distinct treatments (10cm and 30cm of topsoil) and a control treatment were compared. The top 5cm of the seed bank housed 90% of the viable seeds. Collection and spreading of topsoil result in a dilution of the seed bank with a 70% loss of viable seeds; a reduction in soil organic matter, N, K and available water, and soil acidification. Topsoil application enhances the species richness of restored embankments, nevertheless, the depth of topsoil spread do not significantly affect the resulting plant cover, species richness or floristic composition. Collecting shallower topsoil layers and doing so in late summer or early autumn would enhance the restorative potential of this scarce resource.

Key words: embankment, diversity, floristic composition, plant cover, roadcut, seed bank, soil properties.

Introduction

Recent years have seen significant increases in the development of linear transport infrastructures due to increases in population density, transport and traffic. It is

estimated that 15,000km of roads have been constructed in Europe during the past decade (ERF 2010). Roads and their verges make up approximately 1% of the territory of the United States (Forman 2000). In these circumstances it is imperative to reduce or compensate for the impacts that such infrastructures have on their surroundings (Forman 2000; Montalvo et al. 2002), by means of restoration projects. A diversity of techniques has been employed for this purpose, with greatly varying results (García-Palacios et al. 2010). These include hydroseeding (Matesanz et al. 2006; Mola et al. 2011), planting (Holl 2002), application of geotextile mesh (Mitchell et al. 2003), ripping and topsoil application (Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010a, b).

The particular characteristics of roadslopes, their steep gradients, poor soil quality and lack of plant cover, expose them to erosive processes that result in high environmental economic and safety-related costs (Arnáez and Larrea 1995; Nicolau 2002). Their instability poses a hazard to road users from landslips on to the carriageways and from flooding caused by blocked gutters. Restoration thus aims to provide plant cover that will stabilise the roadslope surfaces and provide landscaping (Andrés et al. 1996; Hobbs and Harris 2001), by establishing native plant communities of high biodiversity. Nevertheless, the characteristics of roadslopes make them novel ecosystems (Hobbs et al. 2006), with no natural equivalents for comparison, so that restoration is not straightforward and is a major problem for infrastructure contractors.

Topsoil is frequently spread to improve the properties of exposed surfaces following infrastructure construction (Rokich et al. 2000; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010a). This originates from the top 30cm depth soil layer which is removed from the line of an infrastructure prior to its construction. Topsoil contains native seeds (Rokich et al. 2000; Holmes 2001; Tormo et al. 2007), nutrients and microorganisms (Visser et al. 1984) that favour the colonisation and development of plant cover. Topsoil is thus a highly valuable resource that is often used to restore degraded areas, such as those affected by linear infrastructures (Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010a) or by mining (Zhang et al. 2001; Hall et al. 2010).

Currently, a 30cm layer of topsoil is usually suggested for restoration projects. Nevertheless, topsoil is in short supply since the surface to be restored is greater than that of the line of the infrastructure. Hence, when an insufficient volume of topsoil is available it is often mixed with deeper, lesser quality layers, before spreading on roadslopes. In such cases the effectiveness of the restoration is diminished since seed and nutrient availability on the treated surfaces is diluted (Scoles and DeFalco 2003; Mola et al. 2011).

Seeds that are buried deeper than 5cm show a low capacity to germinate and to reach the surface (Traba et al. 2004). This is at odds with the use of a 30cm topsoil layer since it seems probable that shallower applications would prove successful, even though the total quantity of seeds and nutrients contributed by the topsoil to the restored surfaces would be reduced.

The present study addresses the following questions: 1) Does topsoil collection and application affect its viable seed density and seed bank species richness? 2) Does topsoil collection and spread depth affect its physico-chemical properties? 3) What is the effect of the depth of topsoil spread on plant cover, species diversity and floristic composition?

Material and methods

Study area

The study area was at the Dehesa de Mari Martín, in Navacarnero district (40° 18' N; 3° 58' O) west of Madrid (Spain) along the route of a railway line under construction (Spain). The site, on Tertiary sands, offers gently undulating relief. The dominant vegetation is plantations of *Pinus pinaster*. The location has a semiarid Mediterranean climate, with cold winters and dries summers. Mean minimum and maximum temperatures are 9 and 20 °C, respectively, and mean annual precipitation is 450mm.

Experimental design

A newly constructed, north-facing embankment, with a gradient of 14° was selected on the route of the railway line at the beginning of December 2009. Total precipitation from September to December was just 65.1mm. Fifteen 9 x 6m plots were established on this embankment, comprising three treatments each with five replicates: control, without applied topsoil; T10, topsoil applied to 10cm depth, and T30, topsoil applied to 30cm depth. The top 30cm of topsoil was removed from the vicinity of the embankment using a digger, after any vegetation had been cleared. This topsoil was carried to and applied on the experimental plots the same day that it was collected.

Composition of the topsoil seed bank

Twenty soil cores of 4cm diameter and 10cm depth were taken in December 2009 within the area from which topsoil was later collected, in order to quantify the effect of the manipulation of the topsoil on the seed bank. The samples were separated into two levels: the surface layer (0–5 cm) and the deeper layer (5–10 cm). Similarly, 8 soil cores of 4cm diameter and 5cm depth were taken from each of the topsoiled plots. The samples were air-dried in the laboratory for four days, placed on vermiculite in seed trays and moved to a greenhouse. Here they were kept hydrated for at least a complete annual cycle except in the summer drought period (June – September). Seeds were identified to species level once they had germinated.

Physico-chemical topsoil properties

Twenty 1kg samples of substrate were collected in December 2009 before the topsoil was removed (original substrate). After topsoil had been spread on the T10 and T30 plots, 1kg of substrate was collected at random from each plot for physico-chemical analysis. All samples were air-dried, sieved through 2mm mesh and analysed for organic content (OM; Walkley and Black 1934), total nitrogen (N; Kjeldahl), phosphorus (P) and assimilable potassium (K; extracted with acetate-EDTA; Läkanen and Enviö 1971; Cottenie et al. 1975), measured by spectrophotometry, and colorimetry in the case of phosphorus. Percentage sand, silt and clay content were determined (Day

1965) and the available water content measured by gravimetric methods (Richards 1954). Soil pH was measured in a solution of 1:2.5 soil/water.

Plant cover, species diversity and composition of roadslope vegetation

The cover of each plant species was determined visually in spring 2010 and 2011, the optimum period for studying Mediterranean herbaceous communities. This involved setting up six 0.5m quadrats in each plot, three of them 1m from the upper plot margin and the other three 1m from the lower margin. The percentage cover of herbaceous plants and bare ground was noted and species richness (S) and Shannon diversity [$H' = -\sum (p_i) (\ln p_i)$] and equitability indices [$E = H' / \ln S$] (Shannon and Weaver 1963) were calculated.

Data analysis

ANOVAs were used to analyse soil seed bank species richness and density. We compared the values of these parameters between the original substrate and the spread topsoil and between surface and deep soil layers of the original substrate.

The physico-chemical properties of the topsoil before collection and after application was analysed by a MANOVA with the treatment (control, T10 and T30) as explanatory variable.

Cover of woody and herbaceous plants and bare soil, together with the richness, diversity and equitability indices, were analysed by means of a repeated measures ANOVA, with the year as the within-subjects variable and treatment as the between-subjects variable. Where their interaction proved significant a year by year ANOVA was performed and differences between factor levels were analysed by a Tukey test with SPSS 15.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

The response of floristic composition to the treatments was tested by Redundancy Analysis (RDA) using the CANOCO 4.5 program (ter Braak 1990) and CANODRAW for Windows 4.12 (Smilauer 1993) for the graphics. Environmental variables, treatment and period were introduced into the analysis. Results were analysed with a Monte Carlo

test (499 permutations) for the first canonical axes. The percentage cover values for species were log-transformed.

To compare the effects of treatments over time within permanent plots, the Principal Response Curves method (PRC) was employed, using CANOCO (versión 4.5; Ter Braak and Smilauer 2002). Previously an RDA was carried out, introducing treatment interactions with years as environmental variables (excluding the interaction of period with the control which served as a reference series) and the year as covariable (in application terms). The statistical significance of this ordination was tested with a Monte Carlo permutations test (499 permutations). The significance of a second axis, when the first proved significant, was analysed with another RDA introducing the sample coordinates in the first axis as a covariable, in addition to the year (Van Den Brink and ter Braak 1999).

Results

Composition of the topsoil seed bank

A total of 32 species were found in the soil samples of the original substrate (Appendix A). Mean viable seed density in the seed bank was 5092 ± 472 viable seeds·m⁻², the most dominant species being *Jasione montana* (18%), *Crassula tillaea* (11%) and *Erophila verna* (9%). In the original substrate, surface seed banks (0-5cm) had higher values for number of germinations, viable seed density and species richness per core than deeper layers (5-10cm) (Table 1).

Mean viable seed bank density of the spread topsoil was 1741 ± 152 viable seeds·m⁻², belonging to 35 species (Table 1). *Juncus bufonius* (19%) and *Erophila verna* (17%) and *Crassula tillaea* (10%) were the most abundant species.

Table 1: ANOVA summary and mean values (mean \pm SE) of the number of germinations, viable seed density and species richness of the seed banks in the original substrate and in the plots with topsoil spread: T10, 10cm and T30, 30cm.

	Variable	0-5 cm	5-10cm	d.f	F	P
Original substrate	Nº germinations	5.7 \pm 0.9	0.8 \pm 0.3	1	50.9	<0.001
	Seed density (seeds·m ⁻²)	4496.1 \pm 744.4	596.8 \pm 198.9	1	33.2	<0.001
	Species richness	3.3 \pm 0.4	0.6 \pm 0.2	1	61.3	<0.001
	Variable	T10	T30	d.f	F	P
Plots with topsoil	Nº germinations	2.5 \pm 0.3	1.9 \pm 0.3	1	1.60	>0.05
	Seed density (seeds·m ⁻²)	1969.5 \pm 226.1	1512.0 \pm 199.0	1	0.01	>0.05
	Species richness	2.0 \pm 0.2	1.7 \pm 0.2	1	0.51	>0.05

Physico-chemical topsoil properties

The collection and spreading of topsoil affected its chemical composition (Table 2). Available water content, organic matter (OM), K and N were all significantly reduced by topsoil collection and spreading when compared with the original substrate condition. In addition, soil pH showed acidification relative to the original condition. However, P was greater in the T30 plots than in the original soil.

Soil physical properties (percentages of clay, silt and sand) were similar in both the original substrate and in the experimental plots. The depth of topsoil spreading did not affect soil physico-chemical properties (Table 2).

Topsoil application and plant cover restoration

Herbaceous cover was greater in the control than in the topsoil plots during the first year ($F_{2, 90} = 22.2$; $P < 0.001$; Table 3). Such cover increased in all plots during the second year until it was equal in all treatments ($F_{2, 90} = 2.6$; $P > 0.05$; Table 3). The ‘period x treatment’ interaction proved significant ($F_{2, 90} = 9.4$; $P < 0.001$) since the increase of herbaceous cover over time was greater in the topsoil plots than in the controls.

Table 2: Physico-chemical parameters (means \pm SE) of original soil samples and of those in experimental plots with 10cm (T10) and 30cm (T30) of topsoil applied. OM: Organic matter; P: phosphorus content; K: potassium content; N: nitrogen content. Different letters (a, b) indicate significant differences ($P < 0.05$) between treatments.

Parameters	Original substrate	T10	T30	F	P
Available water (g/kg)	55.4 \pm 2.66 ^b	41.4 \pm 3.03 ^a	40.7 \pm 3.70 ^a	5.97	0.007
OM (g/kg)	19.4 \pm 1.42 ^b	10.4 \pm 0.80 ^a	11.1 \pm 0.61 ^a	8.50	0.001
P (mg/100g)	0.2 \pm 0.04 ^a	0.4 \pm 0.06 ^{ab}	0.4 \pm 0.07 ^b	5.44	0.010
N (g/kg)	0.9 \pm 0.06 ^b	0.4 \pm 0.04 ^a	0.5 \pm 0.02 ^a	12.25	<0.001
K (mg/100g)	14 \pm 1.20 ^b	5.7 \pm 0.28 ^a	6.2 \pm 0.15 ^a	10.86	<0.001
pH	6.4 \pm 0.07 ^b	5.8 \pm 0.02 ^a	5.7 \pm 0.06 ^a	24.34	<0.001
Clay (g/kg)	161.9 \pm 15.61	105.4 \pm 27.38	133.8 \pm 32.91	1.46	0.250
Sand (g/kg)	636.1 \pm 16.397	694.9 \pm 32.86	668.2 \pm 28.39	1.50	0.241
Silt (g/kg)	201.9 \pm 9.823	199.7 \pm 5.79	198.0 \pm 7.06	0.03	0.975

Bare soil cover declined in the second year relative to the first ($F_{1, 90} = 184.8$; $P < 0.001$), only the second year showed a lower value in the control plots than in the topsoil plots ($F_{2, 90} = 2.1$; $P > 0.05$ for 2010 and $F_{2, 90} = 6.2$; $P < 0.05$ for 2011; Table 3).

Table 3: Mean values (means \pm SE) for herbaceous species and bare soil cover, species richness, diversity and equitability in spring 2010 and spring 2011 for each treatment. Different letters (a, b) indicate significant differences ($P < 0.05$) between treatments. T10 = topsoil applied to 10cm depth, T30 = topsoil applied to 30cm depth.

Period	Treatment	Herbaceous spp.	Bare ground	Richness	Diversity	Equitability
2010	Control	40.8 \pm 3.5 ^b	59.2 \pm 3.5	7.2 \pm 1	1.47 \pm 0.16	0.77 \pm 0.04 ^a
	T10	21.7 \pm 2.0 ^a	65.8 \pm 2.0	6.9 \pm 0.8	1.58 \pm 0.14	0.84 \pm 0.05 ^{ab}
	T30	17.3 \pm 2.1 ^a	67.1 \pm 2.8	6.2 \pm 1.3	1.48 \pm 0.23	0.85 \pm 0.09 ^b
2011	Control	62.0 \pm 3.3	24.7 \pm 2.8 ^a	14.6 \pm 1.63 ^a	2.2 \pm 0.14 ^a	0.83 \pm 0.03
	T10	52.2 \pm 3.8	40.8 \pm 3.9 ^b	17.8 \pm 1.95 ^b	2.31 \pm 0.12 ^{ab}	0.81 \pm 0.03
	T30	61.7 \pm 3.2	34.0 \pm 3.2 ^b	19.5 \pm 1.89 ^b	2.42 \pm 0.13 ^b	0.82 \pm 0.03

Effects of the depth of topsoil spread on species richness, diversity and equitability

In total, 121 species were identified over the two years (Appendix B). Of these, 79 species were found in the control plots and 94 in the topsoil plots. *Avena barbata*, *Capsella bursa-pastoris*, *Carlina corymbosa*, *Diploaxis erucoides*, *Plantago lagopus*,

Psilurus incurvus, *Trifolium glomeratum* and *Trifolium scabrum* occurred exclusively on the control plots.

Although species richness was similar under all treatments during the first year ($F_{2, 90} = 2.6$; $P > 0.05$; Table 3) it was higher in the topsoil plots than in the controls in the second year ($F_{2, 90} = 12.4$; $P < 0.001$; Table 3); so the ‘period x treatment’ interaction was significant ($F_{2, 90} = 10.8$; $P < 0.001$). The depth of spread did not affect species richness in either study year.

Species diversity was similar in all plots during the first year ($F_{2, 90} = 0.5$; $P > 0.05$) and increased during the second in all treatments. The T30 plots showed higher diversity than the control plots in the second year ($F_{2, 90} = 3.6$; $P < 0.05$; Table 3); but there was not a ‘period x treatment’ interaction ($F_{2, 90} = 2.2$; $P > 0.05$).

Equitability was greater in the topsoil plots than in the controls during the first year ($F_{2, 90} = 3.2$; $P < 0.05$; Table 3) but these differences disappeared during the second year ($F_{2, 90} = 0.7$; $P > 0.05$; Table 3) showing a ‘period x treatment’ interaction ($F_{2, 90} = 3.6$; $P < 0.05$).

Topsoil application and floristic composition

The first two RDA axes accounted for 91% of the species variation (Figure 1), 49% of the variation being explained by the first axis. Floristic composition segregated during the first year (spring 2010) between the topsoil plots (T10–2010 and T30–2010) and the controls (C–2010). Three species, *Spergularia purpurea*, *Polygonum aviculare* and *Anthemis arvensis*, showed the highest cover values in the control plots during the first year, whereas those with highest cover values on the topsoil plots were *Bromus sterilis* and *Arabidopsis thaliana*. *Spergula arvensis* and *Bromus madritensis* had the highest cover values on the T10 and T30 plots in 2011, whereas *Trifolium arvense* and *Anacyclus clavatus* then provided the greatest cover on the control plots.

The floristic composition on the T10 and T30 plots differed more from the control plots during the first year than during the second (Figure 2). *Polygonum aviculare*,

Spergularia purpurea and *Anthemis arvensis* showed the highest weightings on the first axis, in accordance with the RDA results (Figure 1).

Species composition was not affected by the depth of topsoil spreading (Figure 2). The ordination diagram of the second PRC axis did not provide any additional information to that contributed by the first axis diagram.

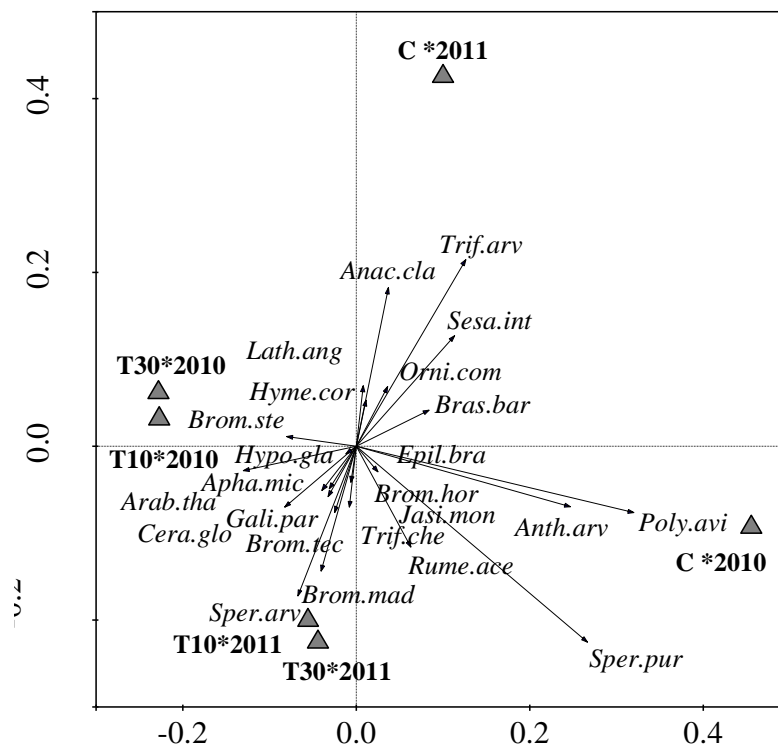


Figure 1: RDA ordination diagram, first and second axes for species against treatments in each year (2010 and 2011). C, Control; T10, 10cm topsoil depth; and T30, 30cm topsoil depth. **Ana.cla.**, *Anacyclus clavatus*; **Anth.arv.**, *Anthemis arvensis*; **Apha.mic.**, *Aphanes microcarpa*; **Arab.tha.**, *Arabidopsis thaliana*; **Bras.bar.**, *Brassica barrelieri*; **Brom.hor.**, *Bromus hordeaceus*; **Brom.mad.**, *Bromus madritensis*; **Brom.ste.**, *Bromus sterilis*; **Brom.tec.**, *Bromus tectorum*; **Cera.glo.**, *Cerastium glomeratum*; **Epil.bra.**, *Epilobium brachycarpum*; **Gali.par.**, *Galium parisiense*; **Hyme.cor.**, *Hymenocarpus cornicina*; **Hypo.gla.**, *Hypochaeris glabra*; **Jasi.mon.**, *Jasione montana*; **Lath.ang.**, *Lathyrus angulatus*; **Orni.com.**, *Ornithopus compressus*; **Poly.avi.**, *Polygonum aviculare*; **Rume.ace.**, *Rumex acetosella*; **Sesa.int.**, *Sesamoides interrupta*; **Sper.arv.**, *Spergula arvensis*; **Sper.pur.**, *Spergularia purpurea*; **Trif.arv.**, *Trifolium arvense*; and **Trif.che.**, *Trifolium cherleri*.

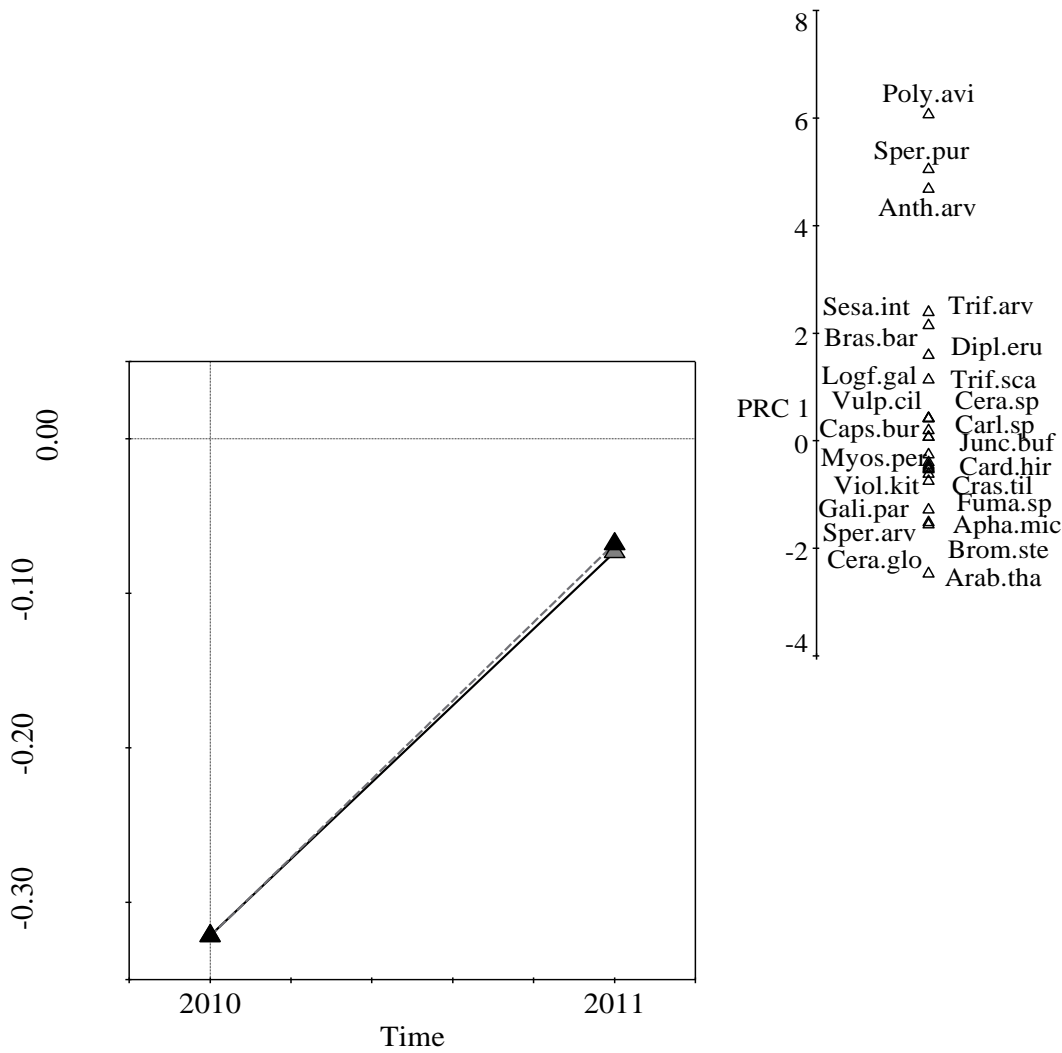


Figure 2: Diagram of the first (a) and second (b) PRC axes. The first two PCR axes proved significant ($F = 13.09$; $P < 0.01$ for axis 1 and $F = 12.95$; $P < 0.01$ for axis 2). The dotted line indicates the 10cm topsoil treatment and the solid line the 30cm treatment. In the ordination axis of the PRC diagram the first component of the variation explained by the differences in treatment over time is represented, with time on the x axis. The weighting of each species on the principal axes, shown on the right of the PRC diagram, represents the affinity of each species to the treatments. Only species showing adjustments greater than 1 are included. **Anth.arv.**, *Anthemis arvensis*; **Apha.mic.**, *Aphanes microcarpa*; **Arab.tha.**, *Arabidopsis thaliana*; **Bras.bar.**, *Brassica barrelieri*; **Brom.ste.**, *Bromus sterilis*; **Caps.bur.**, *Capsella bursa-pastoris*; **Card.hir.**, *Cardamine hirsuta*; **Carl.sp.**, *Carlina* sp.; **Cera.sp.**, *Cerastium* sp.; **Cera.glo.**, *Cerastium glomeratum*; **Cras.til.**, *Crassula tillaea*; **Dipl.eru.**, *Diploaxis erucoides* **Fuma.sp.**, *Fumaria* sp.; **Gali.par.**, *Galium parisiense*; **Junc.buf.**, *Juncus bufonius*; **Logf.gal.**, *Logfia gallica*; **Myos.per.**, *Myosotis personii*; **Poly.avi.**, *Polygonum aviculare*; **Sesa.int.**, *Sesamoides interrupta*; **Sper.arv.**, *Spergula arvensis*; **Sper.pur.**, *Spergularia purpurea*; **Trif.arv.**, *Trifolium arvense*; **Trif.sca.**, *Trifolium scabrum*; **Viol.kit.**, *Viola kitaibeliana*; and **Vulp.cil.**, *Vulpia ciliata*.

Discussion

Topsoil properties are altered by manipulation (collection, transport and application), affecting its restoration potential. Work specifications normally recommend the collection of the top 30cm of soil. Nevertheless, this study demonstrates that nearly 90% of viable seeds and the greatest species diversity reside within the top 5cm, as described by other authors (Fenner and Thompson 2005; Traba et al. 2006). Thus, the traditional harvesting of topsoil leads to a dilution of the seed bank and up to 70% loss of viable seeds. It may also be that the mechanical disruption during the transport and application of topsoil also contributes to the loss of viable seeds although this effect seems to be less important than dilution (Scoles and DeFalco 2003).

The mixing of soil levels when topsoil is gathered also lowers the pH and the organic, N, K and available water content of the material that is later applied to the areas being restored. Most nutrients are concentrated in superficial soil levels (Jobbágy and Jackson 2001). However, the dilution of the top layers means that organic matter and its associated available water, nitrogen and potassium reach lower values than pastures and xerophytic scrublands of the same region (Peco et al. 2006). A very unusual development involves P, which is generally most abundant in the first few centimetres of soil (Jobbágy and Jackson 2001) and which was found to increase in concentration during the present study after topsoil application. It may be that leaching or uptake by herbaceous vegetation means that P is chiefly found in the deeper soil layers in the original soil, so that gathering material from these levels increases its content in the experimental plots.

Similar levels of organic matter and N have been found in other studies of roadslope restoration in which topsoil has been applied (Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010a; Jiménez et al. 2011), a circumstance that may be compromising the results of such restorations (Mola et al. 2011) and that could be reversed with organic soil amendments as used in agriculture (Roldán et al. 1996; Ros et al. 2003).

Erosion control is one of the principal objectives of roadslope restoration. Rapid establishment of plant cover guarantees the stability of such surfaces (Cerdá 2007; Bochet et al. 2010a) and which is favoured topsoil application (Tormo et al. 2007). However, this effect was not clearly evident in our study. Contrary to expectations (Tormo et al. 2007; Mola et al. 2011), in the spring following topsoil application plant cover was greater in the topsoil-free plots than in the others. This was basically due to the predominance of a few species: *Polygonum aviculare*, *Spergularia purpurea* and *Anthemis arvensis*, whose seeds have a persistent character and are present in deep soil levels (Thompson et al. 1997); and so may have been present on the embankment before topsoil was applied. These species attained higher cover values in plots with poorer soils since they are pioneer colonists and are adapted to grow in nutrient-poor environments while being less able to thrive in nutrient-rich soils (Ortega et al. 1987).

The embankment experienced a significant influx of seeds from neighbouring areas during summer–autumn 2010 (Bochet et al. 2007; González-Alday et al. 2009; de la Riva et al. 2011), a supply that can exceed that originating from the topsoil (Mola et al. 2011). Thus the topsoil plots showed a greater increase in plant cover than the controls, and a significant increase in species richness between the first and second years, resulting in the homogenisation of the floristic composition across all plots. Higher species richness could confer greater stability on roadslopes since it is expected that it increases the functionality of the ecosystem (Maestre et al. 2012), broadening species phenology across critical periods. This increase in floristic diversity during the first stages of plant succession when restoring roadslopes has been described by other authors (Hall et al. 2010; de la Riva et al. 2011). Generalist species greatly augment species richness through their capacity to colonize bare and poor terrain. As such spaces become filled interspecific competition leads the community to a more stable situation with greater overall plant cover but with lower species diversity, the outcome of competitive exclusion processes (Matesanz et al. 2006; Valladares et al. 2008; de la Riva et al. 2011).

A reduction in bare ground cover occurred from the first to the second year in all plots, this being a key factor with respect to soil loss and roadslope stability (Bochet et al.

2010a). The topsoil, which contained dead organic matter initially, would have contributed to its breakdown and absorption via microbial activity (unpublished data), whereas in the control plots dead material would have consisted of the remains of annual plants that developed during spring 2010.

The depth of topsoil spread does not seem to affect the restoration process significantly with respect to seed bank richness, plant cover and species diversity. Other studies have described how seedling recruitment does not differ between applications of 10cm or 30cm of topsoil (Rokich et al. 2000) and that the density of seedlings emerging from the seed bank is not affected by topsoil depth between 1 and 8cm (Zhang et al. 2001). Nevertheless, other authors have noted an increase in plant cover (Holmes 2001) and reduced species richness with increased topsoil depth (Bowen et al. 2005), due to the increased availability of organic matter, nitrogen, phosphorus and available water, findings that are not confirmed by our study. Given that seeds buried deeper than 5cm experience difficulty in germinating and seedling emergence (Rokich et al. 2000; Traba et al. 2004, 2006), it would seem advisable to recommend that topsoil should be applied more thinly than presently done, to enable more efficient use of this resource. Such a change in topsoil management could yield major economic savings and better distribution of topsoil for restoring land as needs demand.

Conclusions

Topsoil improves the properties of restored terrain but its collection and application results in a considerable impoverishment of its seed bank and of some soil nutrients when compared with the original substrate, due to the dilution of the topsoil horizon with large volumes of other soil.

Topsoil application when restoring terrain affected by the construction of linear infrastructures favours the establishment of a more diverse plant cover than would become established naturally, but the benefits of topsoil largely depend on the season when it is collected and applied. The limited availability of this resource gives it added

value, so that its correct handling and optimisation are essential to its effective management.

To optimising topsoil properties, we recommend collecting a shallower depth of soil than the 30cm that is now gathered and that it should be applied more shallowly than has normally been the case. It would also be useful to apply topsoil in summer to take advantage of the autumn rains to promote the germination of the seed bank after application. These three new measures would achieve lower losses of nutrients and seed bank seeds as well as increasing the restorative potential of this sought-after resource.

Acknowledgements

This is a description of work by the Obrascón Huarte Lain S.A. Corporation (OHL) in collaboration with the Autónoma University of Madrid. It is part of a broader industrial research project, CENIT-OASIS (Safe, Intelligent and Sustainable Highway Operation), approved under CENIT tender 2008-2011. Grants have been received from the Ministry of Science and Innovation's Centre for Industrial and Technology Development (CDTI). The results presented in this paper are the property of the consortium promoting the project (OHL-Concesiones, IRIDIUM, ABERTIS, OHL, DRAGADOS, GEOCISA, GMV, ASFALTOS AUGUSTA, HIDROFERSA, EIPSA, PyG, CPS, AEC and TORRE DE COMARES). The project is jointly funded by Madrid Regional Government grants for research groups, REMEDINAL 2 S-2009/AMB/783, project GLO 2007-633827-BOS from the Ministry of Science and Innovation. We also thank the assistance by Torres Quevedo (PTQ-09-01-00728) for the employment of Dr. Berta M. Jáuregui by the corporation, under the auspices of the Ministry of Science and Innovation and the Ministry of Education for the Salvador de Madariaga mobility grant (PR2011- 0491) for Begoña Peco. We would also like to thank Ana Buades, Catherine Levassor and Juan Hernández for their collaboration in field sampling, and Carlos Pérez for his critical feedbacks on the draft manuscript.

References

- Andrés, P., Zapater, V., Pamplona, M. 1996. Stabilization of motorway slopes with herbaceous cover, Catalonia, Spain. *Restoration Ecology*, 4, 51-60.
- Arnáez, J., Larrea, V. 1995. Erosion processes and rates on road-sides of hill-roads (Iberian system, La Rioja, Spain). *Physics and Chemistry of the Earth*, 20, 395-401.
- Bochet, E., García-Fayos, P., Tormo, J. 2010a. How can we control erosion of roadslopes in semiarid Mediterranean areas? Soil improvement and native plant establishment. *Land Degradation and Development*, 21, 110-121.
- Bochet, E., Tormo, J., García-Fayos, P. 2010b. Native species for roadslope revegetation: Selection, validation and cost effectiveness. *Restoration Ecology*, 18, 656-663.
- Bowen, C.K., Schuman, G.E., Olson, R.A., Ingram, L.J. 2005. Influence of topsoil depth on plant and soil attributes of 24-year old reclaimed mined lands. *Arid Land Research and Management*, 19, 267-284.
- Cerdá, A. 2007. Soil water erosion on road embankments in Eastern Spain. *Science of the Total Environment*, 378, 151-155.
- Cottenie, A., Kiekens, L., Verloo, M. 1975. Principles of soils and substrate analysis with regards to mobility of nutrient elements. *Pedologie*, 25, 134-142.
- Day, P.R. 1965. Particle fractionation and particle-size analysis. In: Page, A.L. (ed.). *Methods of Soil Analysis*. pp. 545-567. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
- De la Riva, E.G., Casado, M.A., Jiménez, M.D., Mola, I., Costa-Tenorio, M., Balaguer, L. 2011. Rates of local colonization and extinction reveal different plant community assembly mechanisms on road verges in central Spain. *Journal of Vegetation Science*, 22, 292-302.

European Union Road Federation (ERF). 2010. European Road Statistics. [http://www.erf.be/images/stories/Statistics/2010/ERF European Road Statistics 2010.pdf](http://www.erf.be/images/stories/Statistics/2010/ERF_European_Road_Statistics_2010.pdf). Diciembre 2011.

Fenner, M., Thompson, K. 2005. *The ecology of seeds*. Cambridge University Press, UK.

Forman, R.T.T. 2000. Estimate of the area affected ecologically by the road system in the United States. *Conservation Biology*, 14, 31-35.

García-Palacios, P., Soliveres, S., Maestre, F.T., Escudero, A., Castillo-Monroy, A.P., Valladares, F. 2010. Dominant plant species modulate responses to hydroseeding, irrigation and fertilization during the restoration of semiarid motorway slopes. *Ecological Engineering*, 36, 1290-1298.

González-Alday, J., Marrs, R.H., Martínez-Ruiz, C. 2009. Soil seed bank formation during early revegetation after hydroseeding in reclaimed coal wastes. *Ecological Engineering*, 35, 1062-1069.

Hall, S.H., Barton, C.D., Baskin, C.C. 2010. Topsoil seed bank of an Oak-Hickory forest in eastern Kentucky as a restoration tool on surface mines. *Restoration Ecology*, 18, 834-842.

Hobbs, R.J., Harris, J.A. 2001. Repairing the Earth's ecosystems in the new millennium. *Restoration Ecology*, 9, 239-246.

Hobbs, R.J., Arico, S., Aronson, J., Baron, J.S., Bridgewater, P., Cramer, V.A., Epstein, P.R., Ewel, J.J., Klink, C.A., Lugo, A.E., Norton, D., Ojima, D., Richardson, D.M., Sanderson, E.W., Valladares, F., Vilà, M., Zamora, R., Zobel, M.. 2006. Novel ecosystems: theoretical and management aspects of the new ecological world order. *Global Ecology and Biogeography*, 15, 1-7.

Holl, K.D. 2002. Long-term vegetation recovery on reclaimed coal surface mines in the eastern USA. *Journal of Applied Ecology*, 39, 960-970.

Holmes, P.M. 2001. Shrubland restoration following woody alien invasion and mining: Effects of topsoil depth, seed source, and fertilizer addition. *Restoration Ecology*, 9, 71-84.

Jiménez, M.D., Ruíz-Capillas, P., Mola, I., Pérez-Corona, E., Casado, M.A., Balaguer, L. 2011. Soil development at the roadside: a case study of a novel ecosystem. *Land Degradation and Development* DOI: 10.1002/ldr.1157

Jobbágy, E., Jackson, R.B. 2001. The distribution of soil nutrients with depth: Global patterns and the imprint of plants. *Biogeochemistry*, 53, 51-77.

Läkanen, E., Enviö, R. 1971. A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soils. *Acta Agraria Fennica*, 123, 223-232.

Maestre, F. T., Quero, J. L., Gotelli, N. J., Escudero, A., Ochoa, V., Delgado-Baquerizo, M., García-Gómez, M., Bowker, M. A., Soliveres, S., Escolar, C., García-Palacios, P., Berdugo, M., Valencia, E., Gozalo, B., Gallardo, A., Aguilera, L., Arredondo, T., Blones, J., Boeken, B., Bran, D., Conceicao, A., Cabrera, O., Chaieb, M., Derak, M., Eldridge, D., Espinosa, C. I., Florentino, A., Gaitán, J., Gatica, M. G., Ghiloufi, W., Gómez-González, S., Gutiérrez, J. R., Hernández, R. M., Huang, X., Huber-Sannwald, E., Jankju, M., Miriti, M., Monerris, J., Mau, R. L., Morici, E., Naseri, K., Ospina, A., Polo, V., Prina, A., Pucheta, E., Ramírez-Collantes, D. A., Romão, R., Tighe, M., Torres-Díaz, C., Val, J., Veiga, J. P., Wang, D., Zaady, E. 2012. Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands. *Science*, 335, 214-218.

Matesanz, S., Valladares, F.J., Tena, D., Costa-Tenorio, M., Bote, D. 2006. Early dynamics of plant communities on revegetated motorway slopes from southern Spain: Is hydroseeding always needed? *Restoration Ecology*, 14, 297-307.

Mitchell, D.J., Barton, A.P., Fullen, M.A., Hocking, T.J., Zhi, W.B., Zheng, Y. 2003. Field studies of the effects of jute geotextiles on runoff and erosion in Shropshire, UK. *Soil Use and Management*, 19, 182-184.

- Mola, I., Jiménez, M.D., López-Jiménez, N., Casado, M.A., Balaguer, L. 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: Management options under schedule pressure. *Restoration Ecology*, 19, 83-92
- Montalvo, A.M., McMillan, P.A., Allen, E.B. 2002. The relative importance of seeding method, soil, ripping, and soil variables on seeding success. *Restoration Ecology*, 10, 52-67.
- Nicolau, J.M. 2002. Runoff generation and routing on artificial slopes in a Mediterranean–continental environment: the Teruel coalfield, Spain. *Hydrological Processes*, 16, 631-647.
- Ortega, M., Levassor, C., Peco, B. 1987. Seasonal dynamics of mediterranean seed Banks along environmental gradients. *Journal of Biogeography*, 24, 177-195.
- Peco, B., Sánchez, A.M., Azcárate, F.M. 2006. Abandonment in grazing systems: consequences for vegetation and soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 133, 284-294.
- Rokich, D.P., Dixon, K.W., Sivasithamparam, K., Meney, K.A. 2000. Topsoil handling and storage effects on woodland restoration in Western Australia. *Restoration Ecology*, 8, 196-208.
- Roldán, A., Albaladejo, J., Thornes, J.B. 1996. Aggregate stability changes in a semiarid soil after treatment with different organic amendments. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 10, 139-148
- Ros, M., Hernandez, M.T., García, C. 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 463-469.
- Scoles, S.J., DeFalco, L.A. 2003. The revegetation of disturbed areas associated with roads at Lake Mead National Recreation Area. Nevada. Report prepared for National Park Service. Lake Mead National Recreation Area. 11pp. [Technical Report], US.

Shannon, C.E., Weaver, W. 1963. *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Champaign, IL, US.

Smilauer, P. 1993. CanoDraw 3.0. Environmental Change Research Centre, University College, London

Ter Braak, C.J.F. 1990. FORTRAN program for canonical community ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis, principal components analysis and redundancy analysis (version 3.1). Microcomputer Power, Ithaca, New York, US.

Ter Braak, C.J.F. and P. Smilauer. 2002. CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: software for canonical community ordination (version 4.5). Microcomputer Power, Ithaca, New York, US.

Thompson, K., Bakker, J., Bekker, R. 1997. *The soil seed banks of North West Europe: methodology, density and longevity*. University Press of Cambridge, UK.

Tormo, J., Bochet, E., García-Fayos, P. 2007. Roadfill revegetation in semiarid mediterranean environments. Part II: Topsoiling, species selection, and hydroseeding. *Restoration Ecology*, 15, 97-102.

Traba, J., Azcárate, F.M., Peco, B. 2004. From what depth do seeds emerge? A soil seed bank function experiment with Mediterranean grassland species. *Seed Science Research*, 14, 297-303.

Traba, J., Azcárate, F.M., Peco, B. 2006. The fate of seeds in Mediterranean soil seed banks in relation to their traits. *Journal of Vegetation Science*, 17, 5-10.

Valladares, F., Tena, D., Matesanz, S., Bochet, E., Balaguer, L., Costa-Tenorio, M.C., Tormo, J., García-Fayos, P. 2008. Functional traits and phylogeny: What is the main ecological process determining species assemblage in roadside plant communities? *Journal of Vegetation Science*, 19, 381-392.

- Van den Brink, P.J., Ter Braak, C.J.F. 1999. Principal response curves: analysis of time-dependent multivariate responses of a biological community to stress. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 138-148.
- Visser, S., Fujiikawa, J., Griffiths, C.L., Parkinson, D. 1984. Effect of topsoil storage on microbial activity, primary production and decomposition potential. *Plant and Soil*, 82, 41-50.
- Walkley, A., Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 34, 29-38.
- Zhang, Z.Q., Shu, W.S., Lan, C.Y., Wong, M.H. 2001. Soil seed bank as an input of seed source in revegetation of lead/zinc mine tailings. *Restoration Ecology*, 9, 378-385.

Appendix A: List of species present in the seed bank of the original substrate (at depths 0–5cm and 5–10cm) and in the topsoil plots (T10: 10cm of topsoil applied, T30: 30cm of topsoil applied) at the start of the experiment in December 2009.

Species	Original substrate 0-5 cm	Original substrate 5-10 cm	T10	T30
<i>Aira caryophyllea</i> L.	x		x	x
<i>Anagallis arvensis</i> L.			x	x
<i>Anthemis arvensis</i> L.			x	
<i>Aphanes microcarpa</i> (Boiss. & Reut.) Rothm.			x	
<i>Arenaria leptoclados</i> (Rchb.) Guss.	x			
<i>Asterolinon linum-stellatum</i> (L.) Duby in DC.				x
<i>Cardamine hirsuta</i> L.	x		x	x
<i>Cerastium glomeratum</i> Thuill.	x		x	x
<i>Crassula tillaea</i> Lest.-Garl.	x		x	x
<i>Crepis capillaris</i> (L.) Wallr.				x
<i>Epilobium brachycarpum</i> C. Presl			x	
<i>Erophila verna</i> (L.) Chevall.	x		x	x
<i>Galium parisiense</i> L.			x	x
<i>Herniaria glabra</i> L.	x			
<i>Hypochaeris glabra</i> L.				x
<i>Jasione montana</i> L.	x	x	x	x
<i>Juncus bufonius</i> L.	x	x	x	x
<i>Leontodon taraxacoides</i> (Vill.) Marat		x	x	x
<i>Logfia minima</i> (Sm.) Dumort.				x
<i>Ornithopus compressus</i> L.	x			
<i>Papaver dubium</i> L.		x		
<i>Papaver rhoeas</i> L.			x	x
<i>Papaver</i> sp.		x	x	
<i>Plantago</i> sp.	x			
<i>Poa annua</i> L.			x	
<i>Polycarpon tetraphyllum</i> (L.) L.	x	x		
<i>Polygonum aviculare</i> L.	x			
<i>Rumex acetosella</i> L.	x	x	x	x
<i>Sagina apetala</i> Ard.	x		x	
<i>Scleranthus annuus</i> L.	x		x	
<i>Senecio vulgaris</i> L.		x	x	
<i>Sesamoides interrupta</i> (Boreau) G. López	x		x	
<i>Silene</i> sp.	x			
Specie A	x		x	
Specie B	x			x

Species	Original substrate 0-5 cm	Original substrate 5-10 cm	T10	T30
Specie C	x			
Specie D				x
Specie E	x		x	x
Specie F	x			x
Specie H	x			
<i>Spergula arvensis</i> L.			x	x
<i>Spergularia purpurea</i> (Pers.) D. Don			x	
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	x		x	
<i>Trifolium cherleri</i> L.	x		x	x
<i>Veronica</i> sp.	x	x	x	
<i>Vulpia myuros</i> (L.) C.C.Gmel.	x			

Appendix B: List of species present in each of the treatment plots (C: controls, T10: 10cm of topsoil applied, T30: 30cm of topsoil applied) during the vegetation sampling in 2010 and 2011.

Species	C	T10	T30
<i>Agrostis castellana</i> Boiss. & Reut.		x	
<i>Alyssum granatense</i> Boiss. & Reut.		x	
<i>Anacyclus clavatus</i> (Desf.) Pers.	x	x	x
<i>Anagallis arvensis</i> L.		x	x
<i>Andryala integrifolia</i> L.	x	x	x
<i>Anthemis arvensis</i> L.	x	x	x
<i>Aphanes microcarpa</i> (Boiss. & Reut.) Rothm.	x	x	x
<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh. in Holl & Heynh.	x	x	x
<i>Arenaria</i> sp		x	
<i>Asterolinon linum-stellatum</i> (L.) Duby in DC.		x	x
<i>Astragalus pelecinus</i> (L.) Barneby	x		x
<i>Avena barbata</i> Pott ex Link	x		
<i>Brassica barrelieri</i> (L.) Janka	x	x	x
<i>Bromus hordeaceus</i> L.	x	x	x
<i>Bromus madritensis</i> L.	x	x	x
<i>Bromus rigidus</i> Roth			x
<i>Bromus rubens</i> L.	x		x
<i>Bromus</i> sp		x	x
<i>Bromus sterilis</i> L.		x	x
<i>Bromus tectorum</i> L.	x	x	x
<i>Calendula arvensis</i> L.		x	x
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	x		
<i>Cardamine hirsuta</i> L.		x	x
<i>Carlina corymbosa</i> L.	x		
<i>Carlina</i> sp	x		
<i>Centaurea melitensis</i> L.			x
<i>Centranthus calcitrapae</i> (L.) Dufr.	x	x	x
<i>Cerastium glomeratum</i> Thuill.	x	x	x
<i>Cerastium</i> sp.	x		
<i>Chondrilla juncea</i> L.	x	x	x
<i>Conyza</i> sp	x	x	x
<i>Corrigiola</i> sp			x
<i>Corynephorus divaricatus</i> (Pourr.) Breistr.	x	x	x
<i>Crassula tillaea</i> Lest.-Garl.	x	x	x
<i>Crepis capillaris</i> (L.) Wallr.	x	x	x

Species	C	T10	T30
<i>Crepis vesicaria</i> L.	x	x	x
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	x		x
<i>Dactylis glomerata</i> L.		x	x
<i>Diplotaxis eruroides</i> (L.) DC.	x		
<i>Echium plantagineum</i> L.	x	x	
<i>Epilobium brachycarpum</i> C. Presl	x	x	x
<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Her.	x	x	x
<i>Erodium</i> sp	x		
<i>Eryngium campestre</i> L.	x		x
<i>Filago pyramidata</i> L.		x	x
<i>Fumaria</i> sp		x	x
<i>Galium parisiense</i> L.	x	x	x
<i>Galium</i> sp		x	
<i>Geranium molle</i> L.			x
<i>Herniaria glabra</i> L.	x	x	x
<i>Herniaria hirsuta</i> L.	x	x	x
<i>Hymenocarpus cornicina</i> (L.) Vis.	x	x	x
<i>Hymenocarpus lotoides</i> (L.) Vis.	x	x	x
<i>Hypochaeris glabra</i> L.	x	x	x
<i>Inula</i> sp		x	
<i>Jasione montana</i> L.	x	x	x
<i>Juncus bufonius</i> L.		x	x
<i>Lactuca serriola</i> L.	x		x
<i>Lathyrus angulatus</i> L.	x	x	x
<i>Leontodon taraxacoides</i> (Vill.) Marat	x	x	x
<i>Linaria sparteae</i> (L.) Chaz.		x	x
<i>Logfia gallica</i> (L.) Coss. & Germ.	x	x	x
<i>Logfia minima</i> (Sm.) Dumort.	x	x	x
<i>Logfia</i> sp		x	x
<i>Lolium rigidum</i> Gaudin	x	x	
<i>Lupinus angustifolius</i> L.			x
<i>Mibora minima</i> (L.) Desv.	x	x	x
<i>Minuartia</i> sp	x	x	x
<i>Muscari comosum</i> (L.) Mill.		x	
<i>Myosotis personii</i> Rouy		x	x
<i>Myosotis ramosissima</i> Rochel in Schultes	x	x	x
<i>Myosotis stricta</i> Roemer & Schultes		x	x
<i>Ornithopus compressus</i> L.	x	x	x
<i>Papaver argemone</i> L.	x	x	x
<i>Papaver dubium</i> L.	x	x	x
<i>Papaver rhoeas</i> L.		x	x

Species	C	T10	T30
<i>Petrorhagia nanteuillii</i> (Burnat) P.W. Ball & Heywood			x
<i>Plantago lagopus</i> L.	x		
<i>Polygonum aviculare</i> L.	x	x	x
<i>Psilurus incurvus</i> (Gouan) Schinz & Thell.	x		
<i>Ranunculus</i> sp		x	
<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	x	x	
<i>Rumex acetosella</i> L.	x	x	x
<i>Sanguisorba minor</i> Scop	x	x	x
<i>Senecio gallicus</i> Chaix		x	x
<i>Senecio vulgaris</i> L.	x	x	x
<i>Sesamoides interrupta</i> (Boreau) G. López	x	x	x
Specie 1			x
<i>Spergula arvensis</i> L.	x	x	x
<i>Spergula pentandra</i> L.		x	x
<i>Spergularia purpurea</i> (Pers.) D. Don	x	x	x
<i>Taeniatherum caput-medusae</i> (L.) Nevski	x	x	
<i>Taraxacum officinale</i> Weber	x	x	
<i>Teesdalia coronopifolia</i> (J.P. Bergeret) Thell.		x	x
<i>Thapsia villosa</i> L.		x	
<i>Tolpis barbata</i> (L.) Gaertner		x	x
<i>Trifolium angustifolium</i> L.		x	x
<i>Trifolium arvense</i> L.	x	x	x
<i>Trifolium campestre</i> Schreb. in Sturm	x	x	x
<i>Trifolium cernuum</i> Brot.	x	x	
<i>Trifolium cherleri</i> L.	x	x	x
<i>Trifolium gemellum</i> Pourr. ex Willd.		x	x
<i>Trifolium glomeratum</i> L.	x		
<i>Trifolium hirtum</i> All.	x	x	x
<i>Trifolium scabrum</i> L.	x		
<i>Trifolium</i> sp		x	x
<i>Trifolium subterraneum</i> L.	x	x	x
<i>Trifolium suffocatum</i> L.		x	
<i>Trifolium tomentosum</i> L.	x		x
<i>Trisetum paniceum</i> (Lam.) Pers.			x
<i>Valerianella coronata</i> (L.) DC. in Lam. & DC.	x	x	x
<i>Veronica arvensis</i> L.	x		x
<i>Veronica verna</i> L.	x	x	x
<i>Vicia lathyroides</i> L.		x	x
<i>Vicia lutea</i> L.		x	x
<i>Vicia sativa</i> L.		x	x
<i>Viola kitaibeliana</i> Schult. in Roem. & Schult.	x	x	x

Species	C	T10	T30
<i>Vulpia ciliata</i> Dumort.	x		x
<i>Vulpia muralis</i> (Kunth) Nees	x	x	
<i>Vulpia myuros</i> (L.) C.C.Gmel.	x	x	x
<i>Xolantha guttata</i> (L.) Raf.	x	x	x

CAPÍTULO 2

EL EXTENDIDO DE TIERRA VEGETAL FAVORECE LA RESTAURACIÓN DE LOS PROCESOS ECOLÓGICOS DE LOS TERRAPLENES: FERTILIDAD DEL SUELO Y ACTIVIDAD MICROBIANA

Este capítulo reproduce íntegramente el siguiente manuscrito:

Mejías, V., Rivera, D., Jáuregui, B.M., López-Archilla, A., Peco, B. Spreading topsoil encourages the restoration of ecological processes on embankments: soil fertility and microbial activity. (En revision en *Applied Soil Ecology*).



EL EXTENDIDO DE TIERRA VEGETAL FAVORECE LA RESTAURACIÓN DE LOS PROCESOS ECOLÓGICOS DE LOS TERRAPLENES: FERTILIDAD DEL SUELO Y ACTIVIDAD MICROBIANA

Resumen

La construcción de las infraestructuras lineales afecta severamente a las funciones y propiedades de los ecosistemas. La restauración de sus taludes, de resultados muy variables, tradicionalmente se ha abordado desde el punto de vista de la regeneración de la cubierta vegetal, ignorando las interacciones planta-suelo vinculadas al crecimiento de las plantas. En el presente trabajo se estudia la importancia de la tierra vegetal y la potencia de extendido (10 o 30 cm) sobre las propiedades físico-químicas del suelo y su actividad microbiana. Esta última se estima a través de indicadores de actividad enzimática (β -glucosidasa y fosfatasa ácida) e intensidad de la respiración edáfica. La adición de tierra vegetal aumentó el contenido en materia orgánica y nitrógeno del suelo, así como el contenido en limo, independientemente del espesor del extendido. La tierra vegetal favoreció también a la comunidad microbiana, reflejándose tanto en el incremento de la actividad enzimática como de la respiración del suelo. La potencia de extendido de este recurso no pareció afectar a la actividad de la β -glucosidasa o de la fosfatasa, aunque sí a la respiración, posiblemente debido a su mayor capacidad de retención del agua. Se puede concluir que los tratamientos con tierra vegetal, mejoran la fertilidad del suelo e incrementan la actividad microbiana, lo que aceleraría la tasa de descomposición de la necromasa. La tierra vegetal, por tanto, promueve el rápido desarrollo de la vegetación, incrementando con ello el potencial de restauración de los taludes. El hecho de que no haya diferencias en estos parámetros entre el extendido de 10 cm y de 30 cm, supondría un ahorro de este recurso tan escaso en la construcción de las infraestructuras lineales.

Palabras clave: actividad enzimática; β -glucosidasa; fosfatasa; interacciones planta-suelo; respiración del suelo; tierra vegetal.

SPREADING TOPSOIL ENCOURAGES THE RESTORATION OF ECOLOGICAL PROCESSES ON EMBANKMENTS: SOIL FERTILITY AND MICROBIAL ACTIVITY

Abstract

Construction of linear transport infrastructure has severe effects on ecosystem functions and properties, and the associated embankments are restored with highly variable results. This problem is usually approached from the perspective of plant cover regeneration, ignoring plant-soil interactions related to plant growth. This study evaluated spread topsoil depth (10 to 30cm) on selected physico-chemical properties and microbial activity. Organic matter, nitrogen and also silt content increased when topsoil was spread across the slopes, regardless of the depth of the spread layer. Topsoil also encourages the microbial activity, manifested in increased enzyme activity as well as soil respiration. Depth seemed to affect respiration but not β -glucosidase or phosphatase activity, possibly due to the soil's greater water retention capacity. Results from this study indicated that topsoil treatment improves microbial activity and increases soil fertility. Topsoil encourages vegetation growth, thereby increasing the effectiveness of slope restoration. The lack of detected differences between 10 and 30cm layers of topsoil could permit savings of this scarce resource during the construction of linear infrastructure.

Keywords: enzyme activity; β -glucosidase; phosphatase acid; plant-soil interactions; soil respiration; topsoil.

Introduction

Transport infrastructures have spread very rapidly in recent decades. The construction of infrastructure such as roads, railway lines and other civil engineering work has severe

impacts on ecosystems, causing habitat fragmentation, soil compaction, heavy erosion and sediment transport, among other effects (Forman and Alexander 1998; Spellerberg and Morrison 1998; Coffin 2007). Topographic changes such as the creation of totally new artificial slopes are also associated with this engineering infrastructure. Because the nature of these new slopes (angle, compaction and erosion potential) vegetation establishment is difficult, their restoration requires assistance (Hobbs and Norton 1996).

Slope colonization by plants is constrained by several factors such as seed dispersal capacity, slope type (cuts or fills), orientation, texture and soil physico-chemical properties (García-Fayos et al. 2000; Mola et al. 2011). To encourage stabilized plant cover on slopes, several techniques such as hydroseedings (Matesanz et al. 2006; Mola et al. 2011), planting (Holl 2002) and applications of geotextile mesh (Mitchell et al. 2003), have been employed. However, topsoil spread is the most successfully technique to improve the soil properties (Tormo et al. 2007). The top 30 cm of soil removed at the start of works contains most of the seeds, nutrients and humus, with the latter retaining water and releasing nutrients in its decomposition (Holmes 2001). However, topsoil is a scarce resource at many linear infrastructure construction sites, and issues linked to its management such as the importance of the depth of the layer spread during roadslope restoration have yet to be determined.

To date, restoration management has mainly focused on manipulating succession in plant communities (García-Orenes et al. 2010). However, ecosystem restoration enhancement requires consideration of the soil itself and its communities of organisms. Several studies of primary succession in soils affected by heavy stress (Bardgett et al. 2007; Garcia-Orenes et al. 2010) have shown the importance of microorganisms in the restoration of soils and plant communities. Plant-soil interactions have a major influence on the structure and function of terrestrial ecosystems. They play a role increasing or decreasing the speed of plant succession and/or its trajectories (Bever et al. 1997; Van der Putten et al. 2009; Garcia-Orenes et al. 2010).

The importance of microorganisms is primarily due to their tremendous quantity and metabolic diversity. Soil microbes are important drivers of plant diversity and

productivity in terrestrial ecosystems (Van der Heijden et al. 2008). In disturbed areas vegetation establishment depends on both the effectiveness of the microorganisms to increase the availability of nutrients in the soil through the decomposition of organic matter, and their ability to establish symbiotic relationships (Abbott et al. 1992; Jasper 2007).

The ability to return organic products to the soil is controlled by the size and activity of microbial biomass (Alvear et al. 2006). It is well known that microbial communities play key ecological roles in the processing of organic matter and energy flows at various scales (Wilczek et al. 2005; Gliieber and Lueders 2009). Heterotrophic microbial communities process this matter through extracellular enzymes, recycling carbon and nutrients. The quantification of microbial activity through the production of exo-enzymes is thus an interesting variable for determining the ability of soils to support plant growth.

The metabolic capacities of soil can be addressed with soil respiration and the activities of enzymes. Phosphatase is an enzyme that hydrolyses organic phosphorus compounds and converts them into different forms of inorganic phosphorus that can be taken up by plants. Variations in the activity of this enzyme are a good indicator of the state of the soil (Zorzona et al. 2006), and are directly related to the formation of mycorrhizae (Alvear et al. 2006), as mycorrhizal fungi are responsible for solubilizing P and hence its uptake by plants (Bolan 1991). Moreover, β -glucosidase catalyses the degradation of cellulose, the majority component of plants (Turner et al. 2002; Zorzona et al. 2006), which makes it a good indicator of organic matter (Ros et al. 2003) and thus of the C, N, P and S availability to plants as well (Dick and Tabatabai 1992). Soil respiration is the flow of carbon dioxide, which mainly moves from microorganisms and plant respiration (CO_2) from the soil surface into the air. This parameter provides a good measurement of the ecosystem's overall metabolism and indirectly, of microbial activity as well (Jensen et al. 1996; Ryan and Law 2005). Respiration by the soil microbial community can inform us about the amount and changes in microbial activity, and ultimately about the ecosystem's overall metabolism (Ryan and Law 2005).

The present study evaluated the effects of spread topsoil on several soil properties including enzyme activities and soil respiration. Furthermore, we pretend to analyse if this parameters differed between the 30 cm and 10 cm topsoil application.

Material and methods

Study area

The study area was a railway line under construction in the vicinity of the Dehesa de Mari Martin in Navalcarnero, west of Madrid, Spain (40 ° 18 'N, 3 ° 58' W). It is located on tertiary sands resulting from the erosion of the granitic Sierra de Guadarrama. The area has a slightly undulating relief, with a *Pinus pinaster* plantation as the predominant vegetation.

The local semiarid Mediterranean climate has cold winters, hot summers and summer drought. Average temperatures in the coldest and warmest months are 9 and 20°C respectively, with an average annual rainfall of 425 mm.

Experimental design

A recently built railway embankment with a 14° slope was selected for the experiment in the first week of December 2009. Three treatments replicated five times were applied to 15 plots measuring 6 m wide x 9 m long. The treatments were: control (no topsoil added), T10 (10cm deep topsoil layer) and T30 (30cm deep topsoil layer).

The soil used for the experiment was collected in the first week of December 2009 from the uppermost 30cm of soil in the pine forest through which the railway line passes, after the trees had been removed. The topsoil was spread on the plots immediately after collection. T30 reflects current slope restoration practices, while T10 was selected for three reasons: a) to reduce the erosion processes that occur on the slopes, b) to reduce seed loss which could be occurring in the bank due to their burial, given that few seeds can germinate and reach the surface from depths higher than 5cm (Traba et. al. 2004),

and c) to optimize the topsoil, a very scarce resource, in great demand for linear infrastructure construction.

Physico-chemical soil properties

In the first week of December 2009, 1kg of soil was collected from each experimental plot using at least eight 4cm diameter by 5cm deep soil cores distributed randomly in each plot. Samples were dried and sieved through a 2mm pore diameter mesh and analysed for their content in organic matter, total nitrogen, assimilable phosphorus and potassium, percentages of sand, silt and clay, and pH. The organic matter (OM) was analysed following the protocol described by Walkley and Black (1934). Total nitrogen (N) was measured with the Kjeldahl method, assimilable phosphorus (P) and potassium (K) were extracted with acetate-EDTA as per Låkanen and Enviö (1971) and Cottenie et al. (1975), respectively. The percentages of soil fractions (sand, silt and clay) were measured as per Day (1965). A 1:2.5 soil/water solution was used for the soil pH analysis.

Enzymatic activity

Six months after the experiment started (June 2010), three soil samples were collected from each plot at a depth of 0-5cm (one in the upper, one in the middle and one in the lower part of each plot). The collected material was air dried. Two subsamples were taken for chemical analysis, in which the microbial activity was measured by determining the phosphatase and β -glucosidase enzymes.

Phosphatase acid (EC 3.1.3.2) was determined colorimetrically as the amount of p-nitrophenol released per 0.5g of soil after being incubated for 1 hour at 37°C with a solution of p-nitrophenyl phosphate substrate in a MUB pH 6.5 buffer (Tabatabai and Bremner 1969). The same method described for the phosphatase was used to determine the β -glucosidase (EC 3.2.1.21), with a p-nitrophenyl β -D-glucopyranoside substrate in a THAM pH 6 buffer (Tabatabai 1982; Makoi and Ndakidemi 2008).

For both enzymes, the spectrophotometric absorbance was measured in a Varian Cary 1C UV Spectrophotometer at 400nm. The amount of p-nitrophenol produced in each

sample (enzyme activity) was defined using a calibration curve obtained from the patterns at different concentrations of p-nitrophenol, which served for both the phosphatase and the β -glucosidase.

Soil respiration

Soil respiration was determined as the rate of CO₂ production, using an infrared gas analyser through a flow chamber (IRGA, EGM-4 Environmental Gas Monitor for CO₂). The chamber was placed in three fixed positions in each of the experimental plots, delimited by PVC pipes partially buried into the ground (in the upper, middle and lower part of each plot). Once a month, from July 2010 to June 2011, measurements of soil respiration were randomly taken in each plot between 10:00 and 13:00 h to avoid bias due to daily variations in temperature or soil moisture. Aboveground vegetation of delimited areas was removed at least one week prior to the in situ measurements.

Data analysis

The effect of T10 and T30 treatments on each of the physico-chemical properties of the soil was analysed with MANOVA.

Enzyme activity β -glucosidase and phosphatase were analysed using a univariate general linear model (GLM). We produced a model for each parameter in which net enzyme activity (mol of p-nitrophenol/g*h) was included as the dependent variable and the treatment (control, T10 and T30) and plot positions (high, medium and low) and their interaction as fixed factors. The 'position on the plot' factor and interactions between factors were eliminated from the analyses when they were not significant. The differences between factor levels were analysed with post-hoc Bonferroni tests.

Mean soil respiration data (CO₂ production rate in g/m²*h) per plot obtained during the twelve sample months was analysed with a repeated measures general linear model. The CO₂ production rate was the within-subject factor. Levels were months (12 measures) and the treatment was the between-subjects factor. Position on the plot was excluded from the model after checking it had no effect on soil respiration.

SPSS 15.0 for Windows was used for the statistical analysis.

Results

Physico-chemical soil properties

Most of the physico-chemical soil properties showed significant differences between treatments (Table 1). Spread topsoil produced a significant increase in soil organic matter and total nitrogen content, a decrease in soil pH and non-significant effects on assimilable P and K. It also increased the percentage of silt, but had no effect on clay or sand. Topsoil depth had no significant effect on any of the analysed soil parameters (Table 1).

Table 1: Selected soil parameters for each treatment (mean \pm ET). Control: no topsoil, T10: 10cm shallow layer of spread topsoil, T30: 30cm deep layer of spread topsoil, OM: Organic matter, P: Phosphorous, K: Potassium, N: Nitrogen.

Parameters	Treatments			ANOVA		
	Control	T10	T30	g.l.	F	P
OM (g/kg)	1.2 \pm 0.38 ^a	10.4 \pm 0.80 ^b	11.1 \pm 0.61 ^b	2	79.8	<0.001
P (mg/100g)	0.2 \pm 0.02 ^a	0.4 \pm 0.06 ^a	0.4 \pm 0.07 ^a	2	3.7	0.056
N (g/kg)	0.2 \pm 0.01 ^a	0.4 \pm 0.04 ^b	0.5 \pm 0.02 ^b	2	25.3	<0.001
K (mg/100g)	6.2 \pm 0.29 ^a	5.7 \pm 0.28 ^a	6.2 \pm 0.15 ^a	2	1.6	0.241
pH	7.4 \pm 0.13 ^b	5.8 \pm 0.02 ^a	5.7 \pm 0.06 ^a	2	131.3	<0.001
clay (g/kg)	169.3 \pm 5.83 ^a	105.4 \pm 27.38 ^a	133.8 \pm 32.91 ^a	2	1.6	0.233
sand (g/kg)	722.3 \pm 10.11 ^a	694.9 \pm 32.86 ^a	668.2 \pm 28.39 ^a	2	1.1	0.363
silt (g/kg)	108.4 \pm 5.65 ^a	199.7 \pm 5.79 ^b	198.0 \pm 7.06 ^b	2	70.9	<0.001

Enzymatic activity

β -glucosidase activity was significantly lower in the control treatment (0.25 \pm 0.03 μ mol of *p*-nitrophenol/g*h; mean \pm SE) than in plots with topsoil (0.70 \pm 0.16 μ mol of *p*-nitrophenol/g*h; mean for T10 and T30 \pm SE; $F_{2,45} = 17.91$, $P < 0.001$). Phosphatase activity was also lower in the control (0.53 \pm 0.04) than in plots with topsoil (1.27 \pm

0.09 μmol of *p*-nitrophenol/ $\text{g}\cdot\text{h}$; mean for T10 and T30 \pm SE; $F_{2;45} = 35.73$, $P < 0.001$). There was no significant effect of soil depth (Figure 1) or position on the plot (high, medium or low) on β -glucosidase ($F_{2;45} = 2.41$, $P > 0.05$) or phosphatase activity ($F_{2;45} = 1.60$, $P > 0.05$).

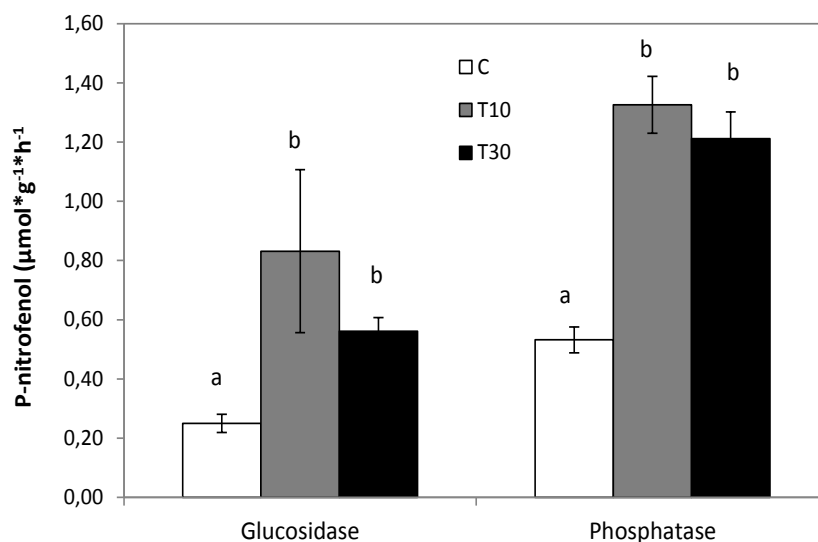


Figure 1: Enzyme activity of Glucosidase and Phosphatase for the topsoil application treatment: control; T10: 10cm shallow layer of spread topsoil and T30: 30cm deep layer of spread topsoil. Bars show standard error.

Soil respiration

Soil respiration varied through the year ($F_{1;12} = 98.47$; $P < 0.001$). The lowest values of soil respiration were recorded in the driest and coldest months, while the highest values correspond to the period with most moisture and milder temperatures (Figure 2). The repeated measures analysis showed a significant effect of the treatment ($F_{2;40} = 29.28$; $P < 0.001$), with a general higher of CO_2 production in plots with the largest volume of fertile topsoil (T30; $0.23 \pm 0.022 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}$, mean \pm SE), than in the control ($0.12 \pm 0.011 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}$) and T10 treatments ($0.17 \pm 0.017 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}$; Figure 2). Position in the plot showed a significant effect in soil respiration ($F_{2;40} = 4.26$; $P < 0.05$), with a higher values of soil respiration at low position ($0.19 \pm 0.018 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}$) in the plot than high or

medium positions (0.15 ± 0.014 and 0.18 ± 0.018 g/m²*h, respective). The interaction treatment * position was not significant ($F_{4;40} = 6.35$; $P > 0.05$).

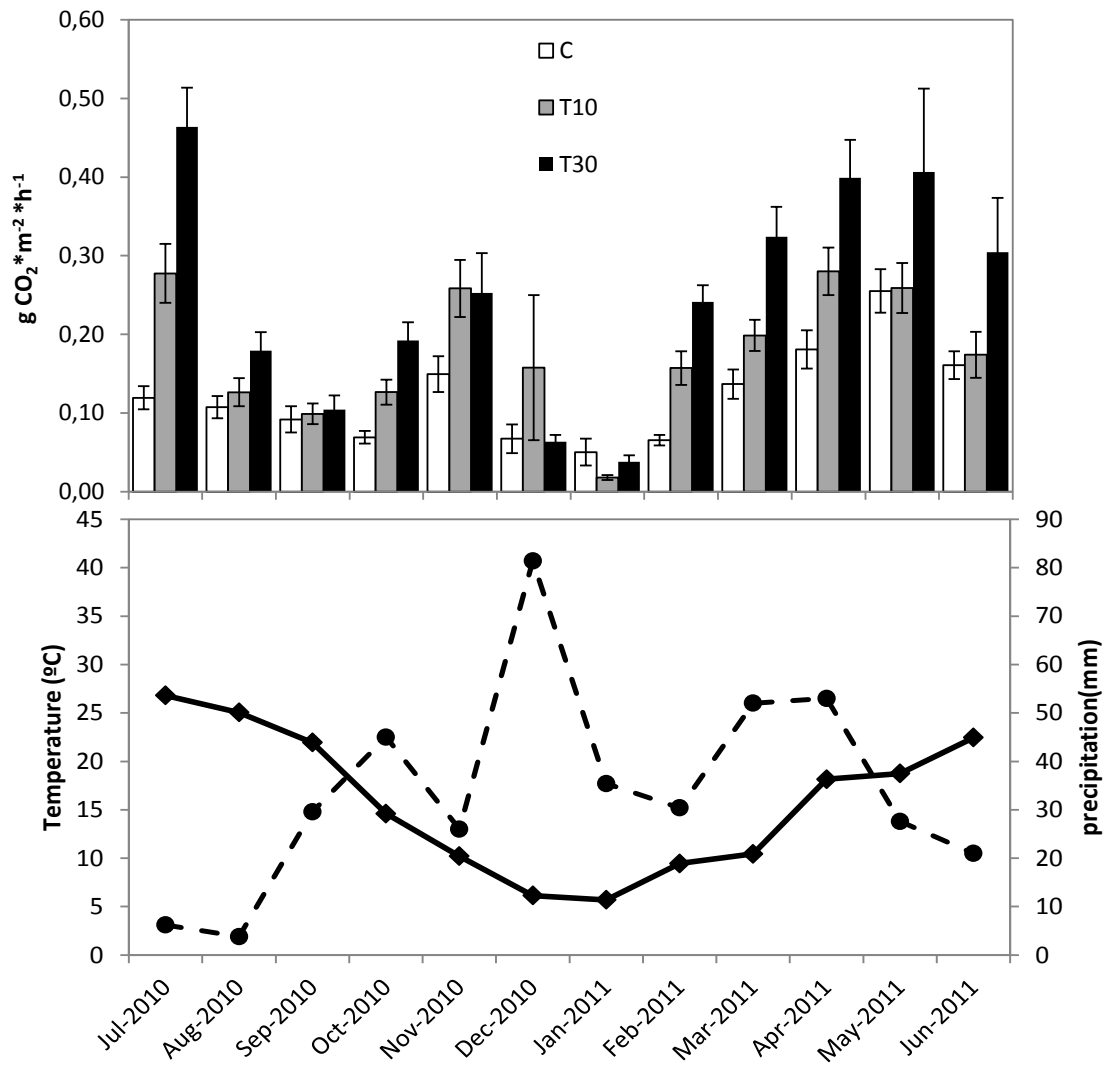


Figure 2: Monthly mean (July 2010-June 2011) of CO₂ production rate (g CO₂ m⁻² h⁻¹) by treatment: control; T10: 10cm shallow layer of spread topsoil and T30: 30cm deep layer of spread topsoil. Bars show standard error. B) Ombrothermic climate diagram with temperature (°C) and precipitation (mm). Source: www.meteored.com.

Discussion

Physico-chemical soil properties

Topsoil spreading improved fertility regardless of the depth of the spread topsoil. Organic matter content and total nitrogen were higher in treatments with spread topsoil. However, assimilable potassium showed no difference between treatments, while assimilable phosphorus presented a non significant slight increase. OM ranged from extremely low values in the control (1.2g/kg) to 10.4 and 11.1g/kg of OM in 10 and 30cm depths respectively. N and P showed a 50% increase with spread topsoil over the control. This improvement was obviously linked to the quality of the spread topsoil, which seems to depend on the alignment of the route, the depth from which it is removed and the material used to build the embankments. Tormo et al. (2007), for example, found more total N and assimilable P in plots with spread topsoil than without it, but found no differences in the organic matter content, which was very low in both cases (less than 1.5%). Similarly, the relatively low pH found in the plots with spread topsoil in the present experiment could be related to the origin of the material used in the experiment, a *Pinus pinaster* plantation, with many acidic compounds in the needles (Arnold 1992) which tend to acidify the soil.

Microbial activity

Productivity and activity of exo-enzymes is closely linked to the soil community dynamics and the ecosystem functions (Sinsabaugh et al. 2002). In addition, soil enzyme activity, particularly that of β -glucosidase and phosphatase, is a good indicator of the state of terrestrial ecosystems due to the speed at which they reflect changes in soil management (Bandick and Dick 1999). This indicator signals degradation or negative disturbance for the system and also its recovery potential, as observed in the present study. Plots where topsoil was spread showed more β -glucosidase and phosphatase activity than in the control plots. Soil microorganisms may detect a nutrient shortage and start up their internal machinery that produces exo-enzymes, which release nutrients in an inorganic form contained in dead organic matter, which remain in the

environs, available to microorganisms and plants. The differences found between the controls and the plots with topsoil were therefore due to the higher organic matter content in the latter, confirmed by the positive relationship between these enzymes found by several authors (Jordan et al. 1995; Bandick and Dick 1999, Araújo et al. 2009) and by others with respect to organic C content (Pancholy and Rice 1973; Eivazi and Tabatabai 1990; Zorzona et al. 2006; Lichner et al. 2007).

Depth of spread topsoil and position on the slope seemed to have no effect on the activity of β -glucosidase or phosphatase. One possible explanation is that both enzymes might have reached a saturation threshold, beyond which their activity was not changed by substrate availability (Freeman et al. 1995; Marx et al. 2001). However, it seems more likely to be due to the fact that the soil chemistry, especially P (4.1 ± 0.68 mg/100g) and OM (10.8 ± 0.71 g/kg), was similar in both treatments with topsoil (T10 and T30) from the same source. The short time since the topsoil was spread may also explain the lack of significant differences in enzyme activity between plots with different amounts of topsoil. This time and the gentle slope of the plots could also explain why no differences were found in enzyme activity in different parts of the slope (upper, middle and lower). Material from upper slope zones that builds up in the lower parts often generates a gradient of soil fertility and moisture, which affects enzyme activity (Bergstrom et al. 1998) and vegetation. This process had not begun when the samples were taken, although one would expect the gradient to appear over time and be reflected in the form of more enzyme activity in the lower than the upper zone of the fill (Collins et al. 1992).

Seasonal fluctuations in soil respiration are mainly due to changes in the soil moisture and temperature conditions (Davidson et al. 1998; King and Harrison 2002), as the rainiest months are the periods of greatest activity in disturbed soils (Litton et al. 2003; Castillo-Monroy et al. 2010). Microbial activity is linked to CO₂ production, and can be estimated indirectly via soil respiration. As in the case of the activity of β -glucosidase enzymes and phosphatase, soil respiration was greater in the presence of topsoil than in its absence. However, the authors noted an increase in soil respiration and therefore greater microbial activity in plots with more topsoil (T30), probably because soils with

more organic matter retain moisture more effectively and thus increase moisture availability.

Monthly levels of soil respiration ranged between 0.038 and 0.464 g CO²·m⁻²·h⁻¹ in soils with more OM, in contrast with 0.050 and 0.255 g CO²·m⁻²·h⁻¹ recorded in the control plot soils. These levels are similar to those of temperate grasslands (0.050 g CO²·m⁻²·h⁻¹) (Raich and Schlesinger 1992) and well-drained soils in temperate mixed forests (0.05 and 0.25 g CO²·m⁻²·h⁻¹) (Davidson et al. 2002), but slightly lower than those of forest soils, 0.088 and 0.66 g CO²·m⁻²·h⁻¹ minimum and maximum respectively (Dörr and Münnich 1987) and Mediterranean forests (0.268 and 0.887 g CO²·m⁻²·h⁻¹) (King and Harrison 2002). These differences may be due mainly to the heavy influence of forest tree roots on soil respiration (Hanson et al. 2000; Tang and Baldocchi 2005), a factor that was absent in the present case. In this case, soil respiration was higher at the lowest slope zones showing the fertility and moisture gradient (Bergstrom et al. 1998) expected with the enzyme activity.

Results from the present study with respect to enzyme activity and soil respiration show that despite a difference in activity in the latter case between treatments with different topsoil depths, the differences between spreading 10 or 30cm of topsoil is not sufficient to justify the spread of topsoil at the currently used depth (30cm). Similar restoration results would be achieved with a similar depth to the one tested in the present study (10cm), thus facilitating embankment restoration with a much smaller amount of topsoil. The distribution of this resource can therefore be optimized in areas where it is scarce.

Conclusions

The present study validated some of the initial hypotheses. Spread topsoil does seem to increase microbial activity in disturbed soils. A significantly greater amount of activity of both analysed enzymes (β-glucosidase and acid phosphatase) was found in plots with added topsoil than the control plots, with no difference found between the two

treatments (T10 and T30). Soil respiration, another indicator of microbial activity, also increased in the presence of topsoil. It therefore seems that spread topsoil improves the physico-chemical properties of the soil and promotes microbial activity, while the actual depth of the topsoil spread across the embankments to be restored does not seem to cause significant changes in these parameters. It is recommended that topsoil should be spread with a depth of no more than 10 cm in order to optimize the use of this resource, enabling organic matter to be saved or used to treat a larger surface area.

Acknowledgements

This paper is a description of work by the Obrascón Huarte Lain S.A. Corporation (OHL) in collaboration with the Ecology Department of the Autónoma University of Madrid. It is part of a broader industrial research project, CENIT-OASIS (Safe, Intelligent and Sustainable Highway Operation), approved under CENIT tender 2008-2011. Grants were received from the Ministry of Science and Innovation's Centre for Industrial and Technology Development (CDTI). The results presented in this paper are the property of the consortium promoting the project (OHL-Concesiones, IRIDIUM, ABERTIS, OHL, DRAGADOS, GEOCISA, GMV, ASFALTOS AUGUSTA, HIDROFERSA, EIPSA, PyG, CPS, AEC and TORRE DE COMARES). The project is jointly funded by Madrid Regional Government grants for research groups, REMEDINAL 2 from the Spanish Ministry of Science and Innovation, and assistance from the Torres Quevedo Subprogram for the employment of Dr. Berta Martínez Jáuregui by OHL, under the auspices of the Ministry of Science and Innovation. Thanks also to the Science and Innovation Ministry for the Salvador de Madariaga Mobility grant awarded to B. Peco.

References

- Abbott, L.K., Robson, A.D., Gazey, C. 1992. Selection of inoculant vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: Norris, J.R., Read, D.J., Varma, A.K. (Eds.). *Methods in Microbiology. Vol. 24. Techniques for the study of mycorrhiza*. pp. 1-21. Academic Press, London.
- Alvear, M., Pino, M., Castillo, R., Trasar-Cepeda, C., Gil-Sotres, F. 2006. Efecto de la cero labranza sobre algunas actividades biológicas en un alfisol del sur de Chile. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 6, 38-53.
- Araújo, A.S.F., Leite, L.F.C., Santos, V.B., Carneiro, R.F.V. 2009. Soil microbial activity in conventional and organic agricultural systems. *Sustainability*, 1, 268-276.
- Arnold, G. 1992. Soil acidification as caused by the nitrogen uptake pattern of Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Plant and Soil*. 142, 41-51.
- Bandick, A.K., Dick, R.P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology & Biochemistry*, 31, 1471-1479.
- Bardgett, R.D., Richter, A., Bol, R., Garnett, M.H., Bäumler, R., Xu, X., Lopez-Capel, E., Manning, D., Hobbs, P.J., Hartley, I.R., Wanek, W. 2007. Heterotrophic microbial communities use ancient carbon following glacial retreat. *Biology Letters*, 3, 487-490.
- Bergstrom, D.W., Monreal, C.M., Millette, J.A., King, D.J. 1998. Spatial dependence of soil enzyme activities along a slope. *Soil Science Society of America Journal*, 62, 1302-1308.
- Bever, J.D., Westover, K.I., Antonovics, J. 1997. Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of the feedback approach. *Journal of Ecology*, 85, 561-573.
- Bolan, N.S., 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 134, 189-207.

Castillo-Monroy, A.P., Maestre, F.T., Rey, A, Soliveres, S., García-Palacios, P. 2010. Biological soil crusts are a key contributor to soil CO₂ efflux, and modulate its spatio-temporal variability in a semi-arid Mediterranean ecosystem. Tesis Doctoral: Ecología funcional de la costra biológica en ambientes semiáridos gipsícolas de la Península Ibérica.

Coffin, A.W. 2007. From roadkill to road ecology: A review of the ecological effects of roads. *Journal of Transport Geography*, 15, 396-406.

Collins, H.P., Rasmussen, P.E., Douglas, Jr. C.L. 1992. Crop rotation and residue management effects on soil carbon and microbial dynamics. *Soil Science Society of America Journal*, 56, 783-788.

Cottenie, A., Kiekens L., Verloo, M. 1975. Principles of soils and substrate analysis with regards to mobility of nutrient elements. *Pedologie*, 25, 134-142.

Davidson, E.A., Belk, E., Boone, R.D. 1998. Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hardwood forest. *Global Change Biology*, 4, 217-227.

Day, P.R. 1965. Particle fractionation and particle-size analysis. In: Page, A.L. (Ed.) *Methods of Soil Analysis*. pp. 545-567. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.

Dick, A., Tabatabai, M.A. 1992. Significance and potential use of soil enzymes. In Meeting, F.J.B., (Ed.). *Soil microbial ecology: applications in agriculture and environmental management*. pp. 95-127. Marcel Dekker, NY, USA.

Dörr, H., Münnich, K.O. 1987. Annual variation in soil respiration in selected areas of the temperate zone. *Tellus*, 39b, 114-121.

Eivazi, F., Tabatabai, M.A. 1990. Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 22, 891-897.

Forman, R.T.T., Alexander, L.E. 1998. Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29, 207-231.

Freeman, C., Liska, G., Ostle, N.J., Jones, S.E., Lock, M.A. 1995. The use of fluorogenic substrates for measuring enzyme activity in peatlands. *Plant and Soil*, 175, 147-152.

García-Fayos, P., García-Ventoso, B., Cerdá, A. 2000. Limitations to plant establishment on eroded slopes in southeastern Spain. *Journal of Vegetation Science*, 11, 77-86.

García-Orenes, F., Guerrero, C., Roldán, A., Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Campoy, M., Zornoza, R., Bárcenas, G., Caravaca, F. 2010. Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid Mediterranean agroecosystem. *Soil & Tillage Research*, 109, 110-115.

Glieber, C., Lueders, T. 2009. Microbial diversity in groundwater ecosystems. *Freshwater Biology*, 54, 649-677.

Hanson, P.J., Edwards, N.T., Garten, C.T., Andrews, J.A. 2000. Separating root and soil microbial contributions to soil respiration: a review of methods and observations. *Biogeochemistry*, 48, 115-146.

Hobbs, R.J., Norton, D.A. 1996. Towards a conceptual framework for restoration ecology. *Restoration Ecology*, 4, 93-110.

Holl, K.D. 2002. Long-term vegetation recovery on reclaimed coal surface mines in the eastern USA. *Journal of Applied Ecology*, 39, 960-970.

Holmes, P.M. 2001. Shrubland restoration following woody alien invasion and mining: Effects of topsoil depth, seed source, and fertilizer addition. *Restoration Ecology*, 9, 71-84.

- Jasper, D.A. 2007. Beneficial soil microorganisms of the jarrah forest and their recovery in bauxite mine restoration in southwestern Australia. *Restoration Ecology*, 15, (4), 74-84.
- Jensen, L.S., Mueller, T. Tate, K.R., Ross, D.J., Magid, J., Nielsen, N.E. 1996. Soil surface CO₂ flux as an index of soil respiration in situ: a comparison of two chamber methods. *Soil Biology & Biochemistry*, 28, 1297-1306.
- Jordan, D., Kremer, R.J., Bergfield, W.A., Kim, K.Y., Cacnio, V.N. 1995. Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. *Biology and Fertility of Soils*, 19, 297-302.
- King, J.A., Harrison, R. 2002. Measuring soil respiration in the field: an automated closed chamber system compared with portable IRGA and alkali absorption methods. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33, 3-4.
- Läkanen, E., Enviö, R. 1971. A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soils. *Acta Agraria Fennica*, 123, 223-232.
- Lichner, L., Hernandez Fernandez, M.T., Mataix-Solera, J., Štekaurova, V., Zajec, A., García Izquierdo, C. 2007. Assessing the microbiological, biochemical, soil-physical and hydrological effects of amelioration of degraded soils. In: Štřelcová, K., Škvarenina, J., Blaženec, M. (Eds.): *Bioclimatology and natural hazards*. International Scientific Conference, Poľana nad Detvou, Slovakia.
- Litton, C.M., Ryan, M.G., Knight, D.H., Stahl, P.D. 2003. Soil surface carbon dioxide efflux and microbial biomass in relation to tree density 13 years after a stand replacing fire in lodgepole pine ecosystem. *Global Change Biology*, 9, 680-696.
- Makoi, J.H.Jr., Ndakidemi, P.A. 2008. Review. Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*, 7 (3), 181-191.
- Marx, M.C., Woods, M., Jarvis, S.C. 2001. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 1633-1640.

- Matesanz, S., Valladares F.J., Tena D., Costa-Tenorio, M., Bote, D. 2006. Early dynamics of plant communities on revegetated motorway slopes from southern Spain: Is hydroseeding always needed? *Restoration Ecology*, 14, 297-307.
- Mitchell, D.J., Barton, A.P., Fullen, M.A., Hocking, T.J., Zhi, W.B., Zheng, Y. 2003. Field studies of the effects of jute geotextiles on runoff and erosion in Shropshire, UK. *Soil Use and Management*, 19, 182-184.
- Mola, I., Jiménez, M.D., López-Jiménez, N., Casado M.A., Balaguer, L. 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: management options under schedule pressure. *Restoration Ecology*, 19 (1), 83-92.
- Pancholy, S.K., Rice, E.L. 1973. Carbohydrates in soil as affected by successional stages of revegetation. *Soil Science Society of America Proceedings*, 37, 227-229.
- Raich, J.W., Schlesinger, W.H. 1992. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus*, 44b: 81-99.
- Ros, M., Hernandez, M.T., García, C. 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology & Biochemistry*, 35, 463-469
- Ryan, M.G., Law, B.E. 2005. Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry*, 73, 3-27.
- Sinsabaugh, R.L., Carreiro, M.M., Repert, D.A. 2002. Allocation of extracellular enzymatic activity in relation to litter composition, N deposition, and mass loss. *Biogeochemistry*, 60, 1-24.
- Spellerberg, I.F., Morrison, T. 1998. *The ecological effects of new roads: a literature review*. Dept. of Conservation. Wellington, N.Z.
- Tabatabai, M.A. 1982. Soil enzymes. In: Page, A.L., Miller, E.M., Keeney, D.R. (Eds.). *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. pp. 903-947. American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.

- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M. 1969. Use of *p*-nitrophenol phosphate in assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology & Biochemistry*, 1, 301-307.
- Tang, J., Baldocchi, D.D. 2005. Spatial-temporal variation in soil respiration in an oak-grass savanna ecosystem in California and its partitioning into autotrophic and heterotrophic components. *Biogeochemistry*, 73, 183-207
- Tormo, J., Bochet, E., García-Fayos, P. 2007. Roadfill revegetation in semiarid Mediterranean environments. Part II: topsoiling, species selection and hydroseeding. *Restoration Ecology*, 15, 97-102.
- Traba, J., Azcárate, F.M., Peco, B. 2004. From what depth do seeds emerge? A soil seed bank function experiment with Mediterranean grassland species. *Seed Science Research*, 14, 297-303.
- Turner, B.L., Hopkins, D.W., Haygarth, P.M. 2002. β -glucosidase activity in pasture soils. *Applied Soil Ecology*, 20, 157-162.
- Van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.A., Van Straalen, N.M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11, 296-310.
- Van Der Putten, W.H., Bardgett, R.D., De Ruiter, P.C., Hol, W.H.G., Meyer, K.M., Bezemer, T.M., Bradford, M.A., Christensen, S., Eppinga, M.B., Fukami, T., Hemerik, L., Molofsky, J., Schädler, M., Scherber, C., Strauss, S.Y., Vos, M., Wardle, D.A. 2009. Empirical and theoretical challenges in aboveground-belowground ecology. *Oecologia*, 161, 1-14.
- Walkley, A., Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 34, 29-38.

Wilczek, S., Fischer, H., Pusch, M.T. 2005. Regulation and seasonal dynamics of extracellular enzyme activities in the sediments of a large lowland river. *Microbial Ecology*, 50, 253-67.

Zorzona, R., Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Arcenegui, V., García-Orenes, F., Mataix-Beneyto, J. 2006. Assessing air-drying and rewetting pre-treatment effect on some soil enzyme activities under Mediterranean conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 2125-2134.

CAPÍTULO 3

ESTIÉRCOL: UNA ALTERNATIVA A LA TIERRA VEGETAL EN RESTAURACIÓN



ESTIÉRCOL: UNA ALTERNATIVA A LA TIERRA VEGETAL EN RESTAURACIÓN

Resumen

El extendido de tierra vegetal es esencial para favorecer la restauración de los espacios afectados por la construcción de infraestructuras lineales. Este recurso aporta semillas, materia orgánica y microorganismos del suelo, favoreciendo la formación de una cubierta vegetal que permita la integración y estabilización de las nuevas superficies generadas. En obra, la tierra vegetal es un recurso muy escaso, por lo que es necesario encontrar alternativas económicas y efectivas que permitan generar una cubierta vegetal. El objetivo de este trabajo es comparar el extendido de tierra vegetal con la aplicación de una enmienda orgánica, el estiércol, habitualmente empleada en agricultura para mejorar las propiedades físico-químicas del suelo. En un terraplén del tren de cercanías de Madrid, se establecieron parcelas experimentales en las que se consideraron dos tratamientos distintos (extendido de tierra vegetal o estiércol) y un control para testar su efecto. A los seis meses del inicio del experimento, la cubierta vegetal generada en las parcelas con tierra vegetal fue muy similar a la de las parcelas con estiércol, excepto por la inapreciable cobertura de hojarasca en éstas últimas. La composición de especies si fue distinta entre tratamientos, siendo más rica en las parcelas con tierra vegetal que en las parcelas con estiércol o en el control. La respiración edáfica fue mayor en las parcelas con extendido de tierra vegetal que en aquéllas con estiércol o sin tratamiento. Además, en éstas se encontraron los valores más altos de materia orgánica y nitrógeno. Sin embargo, las parcelas con estiércol presentaron mayores valores para el fósforo, potasio, y contenido en agua útil, que el resto de los tratamientos. La aplicación de los sustratos orgánicos estudiados para la restauración de los taludes favorece la formación de una cubierta vegetal, aunque la procedencia del mismo condiciona la composición de ésta. Los resultados preliminares indican que el extendido de estiércol acelera el proceso de regeneración de la cubierta

vegetal, sin embargo, es recomendable prolongar el experimento en el tiempo para evaluar con más certeza el efecto de esta alternativa en la restauración de taludes.

Palabras clave: banco semillas, estiércol, respiración edáfica, restauración, riqueza de especies, suelo, talud.

Introducción

En los últimos años, las infraestructuras lineales, autovías y líneas de ferrocarril, han experimentado una importante expansión debido al crecimiento de la población y del transporte. Se estima que actualmente el 1,5% del territorio está ocupado por autovías y el 5% por líneas de ferrocarril en Europa (EU 2011) y, en los próximos años esta superficie previsiblemente aumentará.

En la construcción de estas infraestructuras lineales se generan numerosas superficies desprovistas de vegetación y taludes de gran pendiente (Martínez-Alonso y Valladares 2002; Bochet y García-Fayos 2004; Matesanz et al. 2006), en los que el establecimiento de la cubierta vegetal en etapas tempranas es indispensable para garantizar la consolidación de estas estructuras y su integración en el paisaje (Hobbs y Harris 2001). De esta forma se favorecerá la conectividad entre distintos hábitats y el restablecimiento de flujos, funciones y procesos, y en definitiva, su restauración (Forman y Alexander 1998). Los taludes de carretera son estructuras artificiales que se generan como consecuencia de la topografía del terreno durante la construcción de infraestructuras lineales. Son sistemas caracterizados por tener una elevada pendiente, suelos generalmente muy pobres en nutrientes y una escasa cubierta vegetal, quedando expuestos a importantes procesos erosivos que llevan asociados elevados costes ambientales y económicos (Arnáez y Larrea 1995; Nicolau 2002). Estas singularidades y la falta de un ecosistema de referencia en la naturaleza dificultan su restauración, llegando a suponer en muchos casos una gran inversión por parte de las empresas que explotan estas infraestructuras (García-Fayos et al. 2000).

Habitualmente, el establecimiento de la cubierta vegetal se favorece mediante la aplicación de hidrosiembras (Enríquez et al. 2004; Matesanz et al. 2006), plantaciones (Jochimsen 2001; Holl 2002), o extendido de mallas geotextiles (Benik et al. 2003; Mitchell et al. 2003; Rickson 2006). Antes de la aplicación de estas técnicas, sobre las superficies a restaurar se suelen realizar extendidos de tierra vegetal procedente de los 30 cm más superficiales del suelo que se retiran del trazado de la infraestructura antes de su construcción, para favorecer la colonización y crecimiento de las plantas (Rokich et al. 2000; Patzelt et al. 2001; Balaguer 2002; Bote et al. 2005; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010; Mola et al. 2011).

En restauración, la tierra vegetal está considerada un recurso muy valioso por su contenido en semillas autóctonas (Rokich et al. 2000; Holmes 2001; Tormo et al. 2007), nutrientes y microorganismos (Visser et al. 1984). Su contribución al establecimiento y estabilización de la cubierta vegetal en zonas perturbadas ha sido probada en el ámbito de la construcción de carreteras (Balaguer 2002; Scoles y DeFalco 2003; Bote et al. 2005; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010; Mola et al. 2011) y en la restauración de explotaciones mineras (Rokich et al. 2000; Zhang et al. 2001; Bowen et al. 2005; Hall et al. 2010). Sin embargo, la tierra vegetal es un recurso deficitario en obra debido a que la superficie a restaurar suele ser mayor que la superficie del trazado. De esta forma, cuando no se dispone del volumen de tierra vegetal necesario para restaurar todas las superficies generadas, a menudo, se realizan extendidos de tierra de escasa calidad procedente de capas más profundas del suelo, que comprometen el éxito de la restauración.

En agricultura, la fertilidad de los suelos se mejora mediante la aplicación de fertilizantes o abonos que modifican sus propiedades físico-químicas. Los fertilizantes son complejos y específicos, pero tienen un elevado coste que se compensa con la producción obtenida. Los abonos de origen animal o estiércoles, también mejoran las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Ye et al. 2000; Barzegar et al. 2002; Burton y Turner 2003; Edmeades 2003; Clemente et al. 2006; Baker et al. 2011), pero, a diferencia de los fertilizantes sintéticos, son fáciles de adquirir a bajo coste debido a los excedentes procedentes de las cada vez más numerosas explotaciones

ganaderas en régimen intensivo. El estiércol mejora la fertilidad del suelo y favorece el crecimiento de las plantas mediante la adición de materia orgánica y nutrientes, como carbono orgánico, nitrógeno, fósforo y potasio, así como a través del aumento el pH del suelo (Clemente et al. 2006; Dellaguardia 2010). Su composición química varía en función de la especie animal, siendo el estiércol de caballo uno de los más apropiados para la agricultura debido a su alto contenido en materia orgánica y nitrógeno (Moral et al. 2005).

En los últimos años, se han probado nuevas aplicaciones para el estiércol, con el doble objetivo de aprovechar este recurso orgánico rico en nitrógeno, así como para reducir los excedentes de las explotaciones ganaderas cuyo manejo requiere de una inversión no amortizable por los ganaderos. Algunos ejemplos son el uso del estiércol para la mejora de suelos semiáridos (Ros et al. 2003) o en la restauración de minas (Chiu et al. 2006). En la revegetación de taludes de carretera se han aplicado fertilizantes para agilizar el desarrollo de la cubierta vegetal (Stafford 1982), aunque no se conocen casos en los que se haya aplicado estiércol con los mismos fines. Su uso como enmienda orgánica podría mejorar los resultados de la restauración en estos ambientes tan hostiles y pobres en nutrientes ya que, a largo plazo, los suelos con estiércol contienen una microfauna más rica y más materia orgánica que los fertilizados (Edmeades 2003).

El objetivo de este trabajo fue comparar los efectos de la aplicación de las enmiendas orgánicas estiércol de caballo y tierra vegetal, sobre la actividad microbiana y la cobertura, riqueza y composición florística de la cubierta vegetal en taludes de infraestructuras lineales. Las preguntas que se afrontan en este trabajo son: 1) ¿Cómo afecta el extendido de estiércol de caballo a la actividad microbiana, la cobertura vegetal, la riqueza y la composición florística de la cubierta vegetal? 2) ¿Es apropiado utilizar estiércol como alternativa a la tierra vegetal en la restauración de los taludes?

Material y métodos

Área de estudio

El área de estudio se localizó en La Dehesa de Mari Martín, un pinar de repoblación de *Pinus pinaster* situado en el Término Municipal de Navalcarnero (40° 18' N; 3° 58' O) al este de Madrid, España. La zona experimental se ubicó en la línea de ferrocarril en construcción que une los Términos Municipales de Móstoles y Navalcarnero. La zona de estudio se asienta sobre areniscas, y presenta un clima mediterráneo semiárido con inviernos fríos y veranos secos. Las temperaturas medias mínima y máxima son 9 y 20 °C, respectivamente, con una precipitación media anual de 450 mm (Estación climática de la base aérea de Getafe 40 ° 18' N, 3° 44' W, 710 m.a.s.l., 1971-2000).

Diseño experimental

En diciembre de 2009 se seleccionó un terraplén, con orientación norte y 14° de pendiente, en un tramo de la línea de cercanías que une Navalcarnero con Móstoles. En octubre de 2010, antes de la aplicación de los tratamientos, el talud fue desbrozado mecánicamente eliminando los 10 cm superficiales del suelo para asegurar unas condiciones similares en todas las parcelas. A continuación, se delimitaron 15 parcelas experimentales de 9 x 4 m en las que se aplicaron tres tratamientos distintos. En cinco de las parcelas experimentales se extendió mecánicamente la tierra vegetal hasta conseguir una potencia de 10 cm (Tierra Vegetal). El tratamiento 'Estiércol' consistió en el extendido manual en cinco parcelas experimentales del estiércol de caballo a razón de 2 kg peso seco/m². Sobre las cinco parcelas restantes no se aplicó ningún tratamiento (Control).

La tierra vegetal había sido recogida en diciembre de 2009, retirando los 30 cm superficiales del suelo en las proximidades del terraplén utilizado en el experimento. Ésta se almacenó durante 10 meses en acopios piramidales de 2 m de altura y 1,5 m de ancho, de acuerdo con las prácticas habitualmente empleadas en obra. El estiércol se recogió de una yeguada del mismo municipio, y consistió en una mezcla de heces de caballo y viruta de pino en proporción 3:1 que permaneció a la intemperie durante 8

meses (febrero-octubre). Las yeguas fueron alimentadas con una mezcla de paja, heno y piensos compuestos de alta calidad y rendimiento (mezcla de cereales). Con el fin de controlar la posible llegada de semillas a través del estiércol, en las cinco parcelas con extendido de estiércol se recogieron 2 muestras de suelo con sondas de 4 cm de diámetro x 5 cm de longitud. Las muestras se trasladaron al laboratorio y se dejaron secar al aire durante cuatro días. Posteriormente, se colocaron en alveolos con vermiculita y se llevaron al invernadero donde se mantuvieron hidratadas durante al menos un ciclo anual, a excepción de los 3 meses de sequía estival (de junio a septiembre) característicos del clima mediterráneo. Las semillas que germinaron se identificaron a nivel de especie.

Propiedades físico-químicas del suelo

Al inicio del experimento, octubre 2010, se recogieron al azar muestras de 1 kg de suelo en cada una de las parcelas para caracterizar las propiedades físico-químicas del suelo. Estas muestras se secaron al aire libre, se pasaron por un tamiz de 2 mm de diámetro de poro. Posteriormente se analizó su contenido en materia orgánica (Walkley y Black 1934), nitrógeno total (N; Kjeldahl), fósforo (P) y potasio asimilable (K; extracción con acetato-EDTA: Läkanen y Enviö 1971; Cottenie et al. 1975), medido con un espectrofotómetro. También se midieron los porcentajes de arena, limo y arcilla (Day 1965) y la cantidad de agua disponible. El contenido de agua del suelo se analizó por técnicas gravimétricas (Richards 1954). Por último, el pH del suelo se midió en una disolución de 1:2,5 suelo/agua.

Respiración del suelo

La respiración del suelo o tasa de producción de CO₂ (g de CO₂ *m² *hora⁻¹) ha sido ampliamente usada como índice de estimación de la actividad microbiana del suelo (Pascual et al. 1997). Ésta se midió mensualmente durante un año en tres puntos fijos de cada parcela delimitados con un cilindro de PVC (zona alta, media y baja). La medición de septiembre de 2011 no se pudo realizar por motivos ajenos al experimento pero se continuaron haciendo las medidas en octubre y noviembre. Para ello, se empleó el analizador de gases Environmental Gas Monitor para CO₂ EGM-4 dotado de un sensor

de respiración edáfica cerrado (Closed System Soil Respiration, SRC). La escasa vegetación presente en los puntos de medición se eliminó una semana antes de cada medida, para evitar interferencias debidas a la producción de CO₂ por las raíces de las plantas recién arrancadas.

Composición florística de la cubierta vegetal

En la primavera de 2011, momento fenológico óptimo para el estudio de las comunidades de herbáceas, se determinó visualmente la cobertura de herbáceas, hojarasca y suelo desnudo así como la cobertura por especie. Para ello, en cada parcela se delimitaron 6 cuadrados de 0,5 x 0,5 m (3 en la parte superior y 3 en la inferior de la parcela), separados 1 m de los márgenes superior e inferior de la parcela, respectivamente. A partir de los datos obtenidos se calculó el índice de riqueza ([S]), y los de diversidad ($[H'] = - \sum (p_i) (\ln p_i)$) y equitatividad de Shannon ($[E = H' / \ln S]$) (Shannon y Weaver 1963).

Análisis de datos

El efecto de los tratamientos (Tierra Vegetal, Estiércol y Control) sobre las características físico-químicas de los suelos, la cobertura de herbáceas, hojarasca y suelo desnudo, así como la riqueza de especies, se analizó mediante un modelo lineal general (GLM). Las variables dependientes se transformaron cuando fue necesario para cumplir con la asunción de normalidad.

El efecto del tiempo (12 meses), del tratamiento (Tierra Vegetal, Estiércol y Control) y de la posición en la parcela sobre la respiración edáfica se analizó con un ANOVA de medidas repetidas, en el que el tiempo se introdujo como factor intersujetos y el tratamiento y posición como factores intrasujetos.

Para estos análisis se utilizó SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Para la evaluación de la respuesta de la comunidad de especies a los tratamientos experimentales se llevó a cabo un análisis multivariante de ordenación forzada (Constrained ordination) usando CANOCO (versión 4.5; Ter Braak y Smilauer 2002).

Tras haber testado la longitud del gradiente con un Detrended Correspondence Analysis (DCA), y siendo la respuesta lineal, se usó un Análisis de Redundancia (RDA) (Leps y Smilauer 2003) con los valores de cobertura medios por parcela. Previamente, los porcentajes de cobertura por especies se transformaron logarítmicamente (Leps y Smilauer 2003). La significación estadística de las variables ambientales, tratamiento y posición, y de las covariables (réplicas) se evaluó con el test de permutaciones de Monte Carlo (499 permutaciones). Para los análisis, se eliminaron las especies que no estaban presentes en al menos el 10% de los cuadrados de muestreo.

La composición florística y su relación con los tratamientos estudiados se representó gráficamente mediante el programa Canodraw para Windows 4.12 (Smilauer 1993).

Resultados

Banco de semillas del estiércol

En el banco de semillas de las parcelas con estiércol se identificaron un total de 14 especies distintas y una densidad total de 3.422 semillas viables * m⁻² (Tabla 1). Las especies más abundantes fueron *Trifolium* sp., *Juncus bufonius* y *Epilobium brachycarpum* con una representación en el banco de 33, 16 y 12%, respectivamente.

Propiedades físico-químicas del suelo

Los suelos de las parcelas con estiércol presentaron un mayor contenido en fósforo, potasio y agua útil que los de las parcelas con tierra vegetal o parcelas control (Tabla 2). El contenido en materia orgánica y nitrógeno fue similar en las parcelas con tierra vegetal y estiércol, y mayor que en el control. El pH fue el único parámetro significativamente distinto en todos los tratamientos, aumentando en el siguiente orden: tierra vegetal, estiércol y control.

Tabla 1. Composición de especies del banco de semillas de los suelos de las parcelas con estiércol.

Familia	Especie	Porcentaje
Fabaceae	<i>Trifolium sp.</i>	33
Juncaceae	<i>Juncus bufonius</i>	16
Onagraceae	<i>Epilobium brachycarpum</i>	12
Poaceae	<i>Millium vernale</i>	5
Polygonaceae	<i>Polygonum aviculare</i>	5
Caryophyllaceae	<i>Spergularia purpurea</i>	5
Crassulaceae	<i>Crassula tillaea</i>	2
Poaceae	<i>Dactylis glomerata</i>	2
Poaceae	<i>Lolium rigidum</i>	2
	<i>Especie A</i>	5
	<i>Especie B</i>	7
	<i>Especie C</i>	2
	<i>Especie D</i>	2
	<i>Especie E</i>	2

Tabla 2. Parámetros físico-químicos del suelo (media \pm EE) para cada tratamiento. Las diferencias entre tratamientos ($P < 0,05$; g.l = 2; n = 15) se representan con letras.

Parámetro	Control	Tierra Vegetal	Estiércol	F	P
Agua útil (g/kg)	58 \pm 6,25 ^a	52,7 \pm 1,82 ^a	69,4 \pm 9,13 ^b	8,65	0,05
MO (g/kg)	1,2 \pm 0,86 ^a	10,0 \pm 1,02 ^b	9,7 \pm 3,15 ^b	32,46	<0,001
P (mg/100g)	0,2 \pm 0,04 ^a	0,2 \pm 0,08 ^a	1,1 \pm 0,18 ^b	88,19	<0,001
N (g/kg)	0,2 \pm 0,03 ^a	0,7 \pm 0,08 ^b	0,6 \pm 0,11 ^b	50,81	<0,001
K (mg/100g)	6,2 \pm 0,64 ^a	5,9 \pm 0,38 ^a	22,5 \pm 8,67 ^b	17,90	<0,001
pH	7,4 \pm 0,29 ^c	5,3 \pm 0,04 ^a	6,6 \pm 0,62 ^b	35,31	<0,001
Arcilla (g/kg)	169,3 \pm 13,03 ^b	99,7 \pm 4,63 ^a	177,0 \pm 17,41 ^b	55,02	<0,001
Arena (g/kg)	722,3 \pm 22,61	721,7 \pm 25,18	698,1 \pm 16,59	2,02	>0,05
Limo (g/kg)	108,4 \pm 12,63 ^a	178,6 \pm 25,78 ^b	124,9 \pm 14,27 ^a	19,62	<0,001

En cuanto a los parámetros físicos, el suelo de las parcelas control no difirió significativamente del de las parcelas con estiércol. El suelo de las parcelas con tierra vegetal, por el contrario, tuvo menor proporción de arcilla y más de limo que los otros dos sustratos (Tabla 2).

Respiración del suelo

La respiración del suelo varió a lo largo del año ($F_{1;11} = 64,9$; $P < 0,001$). Durante los meses con menor disponibilidad hídrica en el suelo o temperaturas más bajas, se registraron los valores más bajos de respiración edáfica, mientras que los mayores valores corresponden a la época de mayor humedad y temperaturas más suaves (Figura 1). El análisis de medidas repetidas mostró un efecto significativo del tratamiento ($F_{2;41} = 9,03$; $P < 0,01$), siendo en general significativamente mayor la tasa de producción de dióxido de carbono en las parcelas con tierra vegetal frente a las parcelas con estiércol o las parcelas control. Sin embargo, ni la posición ni la interacción con el tratamiento resultaron significativas ($F_{2;11} = 0,35$; $P > 0,05$ y $F_{4;11} = 0,21$; $P > 0,05$, respectivamente).

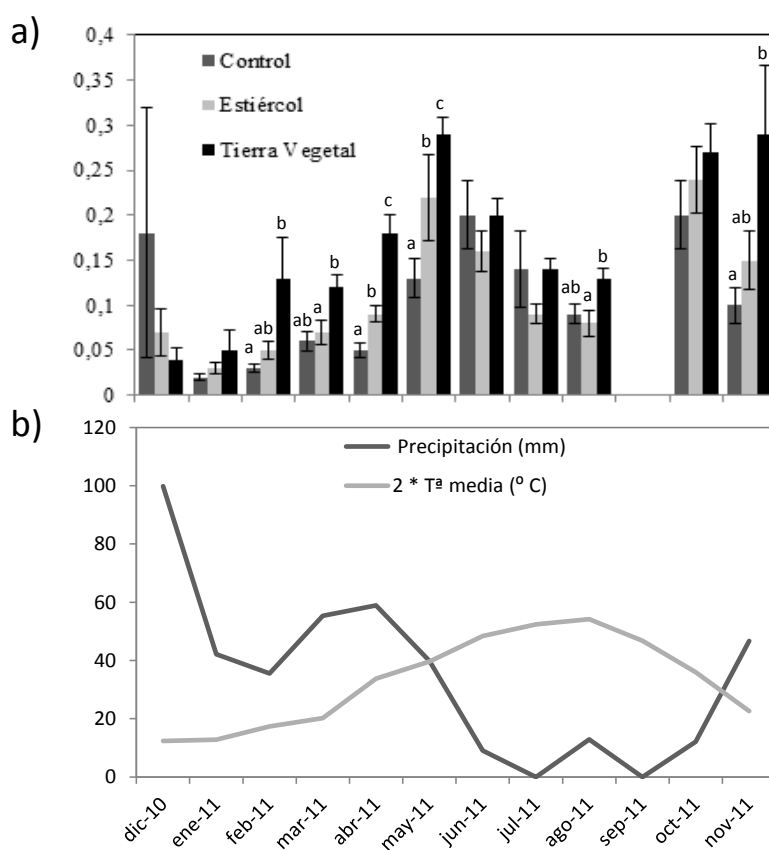


Figura 1. Representación gráfica para el periodo diciembre 2010-noviembre 2011 de a) la media mensual de la tasa de producción de CO₂ (g CO₂ m⁻² h⁻¹) en las parcelas experimentales en función del tratamiento: Control, Estiércol y Tierra Vegetal, Las barras de error representan el error típico. Las diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos se simbolizan con letras, b) Evolución de las precipitaciones y temperaturas medias en la zona de estudio.

Composición florística de la cubierta vegetal

La cobertura de herbáceas en las parcelas control fue menor que en las parcelas con tierra vegetal o estiércol ($34 \pm 4,59$ media \pm error típico de ambos tratamientos), entre las que no se encontraron diferencias significativas (Tabla 3). Por otra parte, el porcentaje de suelo desnudo fue similar en las parcelas con tierra vegetal y estiércol ($65,6 \pm 4,56$ media entre tratamientos) y significativamente menor que en el control (Tabla 3).

La cobertura de hojarasca fue mayor en las parcelas con tierra vegetal que en cualquiera de los otros tratamientos (Tabla 3). De manera similar, el promedio por parcela de la riqueza de especies fue mayor en las parcelas con tierra vegetal que en las parcelas control o con aplicación de estiércol. En las parcelas con tierra vegetal se identificó el mayor número de especies (49 especies), seguido de las parcelas con estiércol (29) y del control (23) (ANEXO C).

Tabla 3: Resultados del ANOVA para el porcentaje de cobertura de herbáceas, suelo desnudo, hojarasca y riqueza de especies en función de los tratamientos (g.l. = 2; n = 90)

Variable	Control	Tierra Vegetal	Estiércol	F	P
Herbáceas (%)	$10,7 \pm 1,47^a$	$35,5 \pm 2,83^b$	$32,5 \pm 6,35^b$	12,52	<0,001
Suelo desnudo (%)	$88,0 \pm 2,17^b$	$63,7 \pm 2,78^a$	$67,5 \pm 6,35^a$	11,04	0,001
Hojarasca (%)	$0,2 \pm 0,17^a$	$4,8 \pm 1,33^b$	$0,0 \pm 0,00^a$	11,72	<0,001
Riqueza	$6,7 \pm 1,43^a$	$14,6 \pm 1,53^b$	$8,8 \pm 0,79^a$	9,71	0,001

El análisis multivariante RDA mostró que la composición florística de las especies se segregó en función de los tratamientos (Test de Permutación Trace= 0,359; F=3,36 y $P<0,05$) (Figura 2). El tratamiento de tierra vegetal explicó el 30% de la variabilidad total de la composición florística del modelo. De las 30 especies encontradas en las parcelas experimentales, solo *Anacyclus clavatus* se mostró positivamente influenciada

por el extendido de estiércol, mientras que el resto de las especies presentaron mayores porcentajes de cobertura en las parcelas con extendido de tierra vegetal.

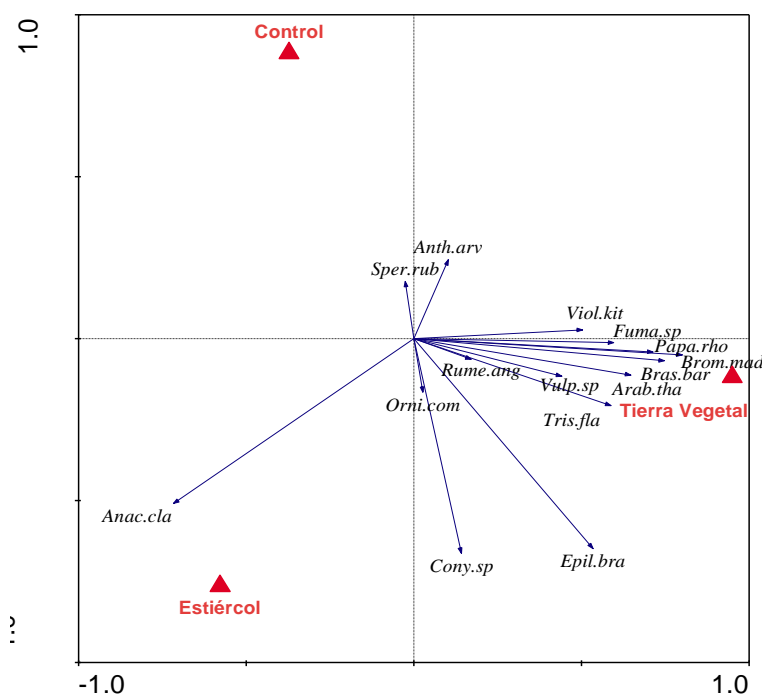


Figura 2. Diagrama RDA para las especies y los tratamientos (Control, Tierra vegetal y Estiércol). Las abreviaciones de las especies son: **Anac.clav**, *Anacyclus clavatus*; **Anth.arve**, *Anthemys arvensis*; **Arab.thal**, *Arabidopsis thaliana*; **Bras.barr**, *Brassica barrelieri*; **Brom.madr**, *Bromus madritensis*; **Cony.sp**, *Conyza* sp; **Epil.brach**, *Epilobium brachycarpum*; **Fuma.sp**, *Fumaria* sp; **Orni.comp**, *Ornithopus compressus*; **Papa.rhoe**, *Papaver rhoeas*; **Rume.angy**, *Rumex angiocarpus*; **Sper.rubr**, *Spergularia rubra*; **Vulp.sp**, *Vulpia* sp; **Tris.flav**, *Trisetum flavescens*; y **Viol.kitai**, *Viola kitaibeliana*.

Discusión

La necesidad de encontrar alternativas a la aplicación de tierra vegetal aumenta en los escenarios en los que este recurso es escaso, como es el caso de la restauración de los espacios afectados por las infraestructuras lineales. La estabilidad de los taludes depende en gran medida de la cubierta vegetal que se establece en ellos (Andrés et al.

1996; Hobbs y Harris 2001; Bochet et al. 2010), por lo que la incorporación de sustratos ricos en semillas y nutrientes es una opción muy interesante para favorecer su restauración. Los resultados del presente trabajo han mostrado que el extendido de estiércol de caballo en los taludes modifica las propiedades físico-químicas de los suelos, hecho que se tradujo en un aumento en agua útil, fósforo y potasio en el suelo, en comparación con las parcelas sin este recurso. El contenido de materia orgánica y nitrógeno del suelo fue similar en las parcelas con tierra vegetal y estiércol, siendo probablemente estos dos parámetros los que condicionaron la presencia de la vegetación en el talud, ya que ambos tratamientos mostraron una mayor cobertura de herbáceas y una menor superficie de suelo desnudo que el control.

El estiércol es una fuente de nutrientes muy importante para los suelos, como ha sido descrito por otros autores (Redente et al. 1984; Haynes y Naidu 1998; Moral et al. 2005; Chiu et al. 2006; Clemente et al. 2006; Dellaguardia 2010). Su materia orgánica contribuye a la formación de agregados estables en el suelo (Ekwue 1992; Edmeades et al. 2003) y a la alcalinización del pH (Ye et al. 2000; Baker et al. 2011). Sin embargo, en el presente trabajo, la aplicación de este recurso orgánico supuso la reducción del pH del suelo debido a los procesos de nitrificación de la materia orgánica (Bernal y Kirchmann 1992). El efecto de la tierra vegetal sobre el pH del suelo estuvo muy condicionado por la propia procedencia de ésta, un pinar de *Pinus pinaster*, cuyas acículas estarían provocando una acidificación del sustrato (Carrillo 2003). En cuanto al resto de los parámetros del suelo, la tierra vegetal y las parcelas control mostraron valores similares en el contenido en agua útil, fósforo y potasio, lo que hace cuestionarse la calidad de la tierra vegetal que se extiende sobre los taludes en su restauración y las ventajas que supone el extendido de estiércol sobre la estructura del suelo y la capacidad de retención de agua, por ejemplo (Edmeades et al 2003).

En definitiva, la capacidad de la tierra vegetal y el estiércol para mejorar las propiedades físico-químicas de los taludes parece demostrada en este trabajo, a pesar de que valores de materia orgánica y nitrógeno encontrados en estos suelos resultaron más bajos que los encontrados en otros trabajos de restauración similares (Andrés y Jorba

2000; Valladares y Alonso 2001; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010; Jiménez et al. 2011).

La aplicación de extendidos de tierra vegetal y de estiércol, además, favoreció el crecimiento de herbáceas los primeros meses tras la construcción del talud, reduciendo al mismo tiempo la superficie de suelo desnudo determinante de los procesos erosivos en estas superficies (Petersen et al. 2004; Bochet y García-Fayos 2004). Este resultado coincide con los observados por otros autores en taludes de carretera en los que se aplicaron extendidos de tierra vegetal (Tormo et al. 2007). La adición de estiércol mantuvo la cobertura de hojarasca en valores similares a los del control, mientras que en las parcelas con tierra vegetal ésta fue mayor. La tierra vegetal que se extendió en las parcelas experimentales contenía restos de corteza, acículas y pequeñas ramas de los pinos de la zona de la que se extrajo la tierra vegetal. El estiércol, por el contrario, había sido homogeneizado en origen por lo que no se apreciaban restos macroscópicos de hojarasca. No es de extrañar, sin embargo, que la aplicación de sustratos ricos en materia orgánica aumentaran la actividad microbiana del suelo, acelerando el reciclado de nutrientes, habiéndose observado en otros trabajos un aumento en biomasa microbiana (Martyniuk y Wagner 1978; McGill et al. 1986; Schnürer et al. 1985) y en actividad enzimática (Dick et al. 1988; Verstraete y Voets 1977). Resultados similares se observaron en el presente trabajo en el que la incorporación de tierra vegetal y estiércol al suelo supuso un incremento en la respiración edáfica y, por tanto, de la actividad microbiana, siendo ésta mayor en presencia de tierra vegetal que con estiércol. Tanto la tierra vegetal (Capítulo 2) como el estiércol (Baker et al. 2011) favorece la actividad de los microorganismos del suelo, aunque en base a los resultados del presente trabajo, el efecto del estiércol sería menos importante que el de la tierra vegetal, probablemente debido a la presencia de comunidades microbianas diferentes en estos sustratos.

Además, se observó una mayor tasa de respiración edáfica coincidiendo con los meses de mayor humedad y temperatura en el suelo, condiciones bajo las que la actividad microbiana se ve favorecida (Davidson et al. 1998; Rey et al. 2002) sobre todo en suelos perturbados (Litton et al. 2003; Castillo-Monroy 2010). Los valores mensuales de

respiración edáfica encontraron en el presente trabajo en las parcelas con extendidos de tierra vegetal o estiércol ($0,04-0,29$ y $0,03-0,24$ g $\text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, fueron similares a los obtenidos en pastos templados ($0,05$ g $\text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) (Raich y Schlesinger 1992), y más bajos que los medidos en bosques mediterráneos ($0,268$ y $0,887$ g $\text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) (Rey et al. 2002), ya que las raíces de los árboles, inexistentes en el presente trabajo, aumentan la tasa de respiración (Hanson et al. 2000; Tang y Baldocchi 2005).

En cuanto a la cubierta vegetal que se establece en las parcelas experimentales tras la aplicación de los tratamientos, la tierra vegetal produjo una mayor riqueza de especies que el estiércol. Esta mayor riqueza estaría asociada a su mayor contenido en semillas viables (Capítulo 1). El estiércol de caballo aporta algunas semillas autóctonas, aunque en menor cantidad. En los bancos de la zona de estudio la densidad de semillas viables es de unas 5100 semillas viables $\cdot\text{m}^{-2}$, aunque su número se reduciría hasta 1500 semillas viables $\cdot\text{m}^{-2}$ repartidas entre 47 especies distintas, al recoger la tierra vegetal y extenderla inmediatamente en los taludes (Capítulo 1). El número de semillas viables aumentó durante los diez meses de almacenamiento (3501 semillas viables $\cdot\text{m}^{-2}$ y 28 especies, datos no publicados), densidad de semillas y riqueza de especies mayor que las encontradas en el banco de semillas de las parcelas con estiércol del presente trabajo (3422 semillas viables $\cdot\text{m}^{-2}$ y 14 especies). Ha de tenerse en cuenta, además, que especies como *Juncus bufonius*, *Crassula tillaea*, *Dactylis glomerata*, *Millium vernale* y *Trifolium campestre*, identificadas en el banco de semillas del estiércol, no aparecieron posteriormente en las parcelas.

En este experimento, el estiércol empleado procedía de una explotación en intensivo, por lo que los caballos no habían pastado en pastos naturales. La utilización de estiércoles procedentes de ganaderías extensivas recogidos en verano hubiera aportado un mayor número de semillas y serían más útiles para la restauración de la cubierta vegetal (Traba et al. 2003).

Tan solo la especie *Anacyclus clavatus* estuvo claramente asociada al tratamiento con estiércol, especie con importante presencia también en vertederos de la misma Comunidad Autónoma (Pastor y Hernández 2002) y cuyas semillas tienen una alta tasa

de germinación y capacidad para establecerse en los taludes (Tormo et al. 2006). Esta especie no apareció en las muestras de estiércol cultivadas en invernadero.

En resumen, la aplicación de extendidos de tierra vegetal y estiércol contribuye a la restauración de los taludes a través de la modificación de las propiedades físico-químicas del suelo y a través del reciclado de nutrientes, dirigido por los microorganismos del suelo (Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010), aunque la composición florística de la vegetación que se establece con la aplicación de estos dos sustratos orgánicos es muy distinta en ambos casos.

Conclusiones

Los extendidos de estiércol de caballo y el de tierra vegetal mejoran las propiedades físico-químicas del suelo favoreciendo el establecimiento de una cubierta de herbáceas que reduce la superficie de suelo desnudo. Este efecto es más claro con el extendido de estiércol que con el de tierra vegetal, aunque la tierra vegetal promueve el establecimiento de comunidades vegetales más ricas en especies que el estiércol y sustratos con mayor actividad microbiana.

Las diferencias entre la tierra vegetal y el estiércol no parecen reflejarse en términos de cobertura vegetal en los taludes, por lo que para acelerar la restauración de taludes en los que su estabilización sea prioritaria, se recomienda el uso tanto de tierra vegetal como de estiércol. En caso de que el objetivo de la restauración fuese aumentar o mantener la diversidad de la vegetación local, se recomendarían realizar extendidos de tierra vegetal.

Agradecimientos

El presente manuscrito supone una descripción de los trabajos realizados por la empresa Obrascón Huarte Lain S.A. (OHL) en colaboración con el Departamento de Ecología de la Universidad Autónoma de Madrid. Se incluye en el ámbito de un proyecto de

investigación industrial más amplio denominado PROYECTO CENIT-OASIS (Operación de Autopistas Seguras Inteligentes y Sostenibles), aprobado en la convocatoria CENIT 2008-2011. Cuenta, por tanto, con subvenciones por parte del Centro para el Desarrollo Tecnológico e Industrial (CDTI) perteneciente al Ministerio de Ciencia e Innovación. Los resultados que se presentan son propiedad del consorcio de empresas que lo promueven (OHL-Concesiones. IRIDIUM. ABERTIS. OHL. DRAGADOS. GEOCISA. GMV. ASFALTOS AUGUSTA. HIDROFERSA. EIPSA. PyG. CPS. AEC y TORRE DE COMARES). Este proyecto ha sido cofinanciado con la ayuda a grupos de investigación de la Comunidad de Madrid, REMEDINAL 2 S-2009/AMB/783, el proyecto GLO 2007-633827- BOS del ministerio de Ciencia e Innovación y con la ayuda Torres Quevedo (PTQ-09-01-00728) para la contratación de la doctora Berta Martínez Jáuregui en el ámbito de la empresa, otorgada por del Ministerio de Ciencia e Innovación.

Referencias

- Andrés, P., Zapater, V., Pamplona, M. 1996. Stabilization of motorway slopes with herbaceous cover, Catalonia, Spain. *Restoration Ecology*, 4, 51-60.
- Andrés, P., Jorba, M. 2000. Mitigation Strategies in Some Motorway Embankments (Catalonia, Spain). *Restoration Ecology*, 8 (3), 268-275.
- Arnáez, J., Larrea, V. 1995. Erosion processes and rates on road-sides of hill-roads (Iberian system, La Rioja, Spain). *Physics and Chemistry of the Earth*, 20, 395-401.
- Baker, L.R., White, P.M., Pierzynski, G.M. 2011. Changes in microbial properties after manure, lime, and bentonite application to a heavy metal-contaminated mine waste. *Applied Soil Ecology*, 48, 1-10.
- Balaguer L. 2002. Las limitaciones de la restauración de la cubierta vegetal. *Ecosistemas*, 11, 72-82.

- Barzegar, A.R., Yousefi, A., Daryshenas, A. 2002. The effect of addition of different amounts and types of organic materials on soil physical properties and yield of wheat. *Plant and Soil*, 247, 295-301.
- Benik, S.R., Wilson, B.N., Biesboer, D.D., Hansen, B., Stenlund, D. 2003. Evaluation of erosion control products using natural rainfall events. *Journal of Soil Water Conservation*, 58, 98-105.
- Bernal, M.P., Kirchmann, H. 1992. Carbon and nitrogen mineralization and ammonia volatilization from fresh, aerobically and anaerobically treated pig manure during incubation with soil. *Biology and Fertility of Soils*, 13, 135-141.
- Bochet, E., García-Fayos, P. 2004. Factors controlling vegetation establishment and water erosion on motorway slopes in Valencia, Spain. *Restoration Ecology*, 12, 166-174.
- Bochet, E., Tormo, J., García-Fayos, P. 2010. Native species for roadslope revegetation: Selection, validation and cost effectiveness. *Restoration Ecology*, 18 (5), 656-663.
- Bote, D., Valladares, F.J., Matesanz, S., Tena, D. 2005. Importancia de la tierra vegetal en la vegetación de desmonte. *Ciencia y Técnica*, 80, 19-24.
- Bowen, C.K., Schuman, G.E., Olson, R.A., Ingram, L.J. 2005. Influence of topsoil depth on plant and soil attributes of 24-year old reclaimed mined lands. *Arid Land Research and Management*, 19, 267-284.
- Burton, C.H., Turner, C. 2003. *Manure management: treatment strategies for sustainable agricultura*. Editions Quae, 451 pp.
- Carrillo, L. 2003. Capítulo 3: Actividad microbina. In: Universidad Nacional de Salta (Ed.). *Microbiología agrícola*. pp 1-28. Universidad Nacional de Salta, Argentina.
- Castillo-Monroy A.P. 2010. *Ecología funcional de la costra biológica en ambientes semiáridos gipsícolas de la Península Ibérica*. Tesis Doctoral. Universidad Rey Juan Carlos.

- Chiu, K.K., Ye, Z.H., Wong, M.H. 2006. Growth of *Vetiveria zizanioides* and *Phragmites australis* on Pb/Zn and Cu mine tailings amended with manure compost and sewage sludge: A greenhouse study. *Bioresource Technology*, 97, 158-170.
- Clemente, R., Almela, C., Bernal, M.P. 2006. A remediation strategy based on active phytoremediation followed by natural attenuation in a soil contaminated by pyrite waste. *Environmental pollution*, 143 (3), 397-406.
- Cottenie, A., Kiekens, L., Verloo, M. 1975. Principles of soils and substrate analysis with regards to mobility of nutrient elements. *Pedologie*, 25, 134-142.
- Day, P.R. 1965. Particle fractionation and particle-size analysis. In Page, A.L. (Ed). *Methods of Soil Analysis*. pp 545-567. American Society of Agronomy, Madison, WI, US.
- Davidson, E.A., Belk, E., Boone, R.D. 1998. Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hadwood forest. *Global Change Biology*, 4, 217-227.
- Dellaguardia, C.S. 2010. *Management, Uses and Environmental Impacts*. Nova Science Pub Inc, 198 pp.
- Dick, R.P., Rasmussen, P.E., Kerle, E.A. 1988. Influence of long-term residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system. *Biological Fertility of Soils*, 6, 159-164.
- Edmeades, D. 2003. The long-term effects of manures and fertilisers on soil productivity and quality: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 66, 165-180.
- Ekwue, E.I. 1992. Effect of organic and fertilizer treatments on soil physical properties and erodibility. *Soil Tillage Research*, 22, 199-209.
- Enríquez, A., Carrasco, M.J., Varela, J.M. 2004. Seguimiento y eficacia de la restauración vegetal de los taludes de autovías. *Ingeniería Civil*, 134, 27-35.

European Union (EU). 2011. *EU transport in figures, Statistical Pocketbook 2011*. Publications Office of the European Union.

Forman, R.T.T., Alexander, L.E. 1998. Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 29, 207-231.

García-Fayos, P., Garcia-Ventoso, B., Cerdà, A. 2000. Limitations to plant establishment on eroded slopes in southeastern Spain. *Journal of Vegetation Science*, 11, 77-86.

Hall, S.H., Barton, C.D., Baskin, C.C. 2010. Topsoil seed bank of an Oak-Hickory forest in eastern Kentucky as a restoration tool on surface mines. *Restoration Ecology*, 18, 834-842.

Hanson, P.J., Edwards, N.T., Garten, C.T., Andrews, J.A. 2000. Separating root and soil microbial contributions to soil respiration: A review of methods and observations. *Biogeochemistry*, 48, 115-146.

Haynes, R.J., Naidu, R. 1998. Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 51, 123-137.

Hobbs, R.J., Harris, J.A. 2001. Repairing the Earth's ecosystems in the new millennium. *Restoration Ecology*, 9, 239-246.

Holl, K.D. 2002. Long-term vegetation recovery on reclaimed coal surface mines in the eastern USA. *Journal of Applied Ecology*, 39, 960-970.

Holmes, P.M., 2001. Invasion and mining: Effects of topsoil depth, seed source, and fertilizer addition. *Restoration Ecology*, 9, 71-84.

Jimenez, M.D., Ruiz-Capillas, P., Mola, I., Pérez-Corona, E., Casado, M.A., Balaguer, L. 2011. Soil development at the roadside: a case study of a novel ecosystem. *Land Degradation & Development*. DOI: 10.1002/ldr.1157

- Jochimsen, M.E. 2001. Vegetation development and species assemblages in a long-term reclamation project on mine spoil. *Ecological Engineering*, 17, 187-198
- Läkanen, E., Enviö, R. 1971. A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soils. *Acta Agraria Fennica*, 123, 223-232.
- Leps, J., Šmilauer, P. 2003. *Multivariate Analysis of Ecological Data using CANOCO*. Cambridge University Press.
- Litton, C.M., Ryan, M.G., Knight, D.H., Stahl, P.D. 2003. Soil surface carbon dioxide efflux and microbial biomass in relation to tree density 13 years after a stand replacing fire in a lodgepole pine ecosystem. *Global Change Biology*, 9, 680-696.
- Martínez-Alonso, C., Valladares, F. 2002. La pendiente y el tipo de talud alteran la relación entre la riqueza de especies y la cobertura de las comunidades herbáceas. *Ecología*, 16, 59-71.
- Martyniuk, S., Wagner, G.H. 1978. Quantitative and qualitative examination of soil microflora associated with different management systems. *Soil Science* 125, 353-350.
- Matesanz, S., Valladares F.J., Tena D., Costa-Tenorio, M., Bote, D. 2006. Early dynamics of plant communities on revegetated motorway slopes from southern Spain: Is hydroseeding always needed? *Restoration Ecology*, 14, 297-307.
- McGill, W.B., Cannon, K.R., Robertson, J.A., Cook, F.D. 1986. Dynamics of soil microbial biomass and water-soluble organic C in Breton L after 50 years of cropping to two rotations. *Canadian Journal of Soil Science*, 66, 1-19
- Mitchell, D.J., Barton, A.P., Fullen, M.A., Hocking, T.J., Zhi, W.B., Zheng, Y. 2003. Field studies of the effects of jute geotextiles on runoff and erosion in Shropshire, UK. *Soil Use and Management*, 19, 182-184.
- Mola, I., Jiménez, M.D., López-Jiménez, N., Casado, M.A., Balaguer, L. 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: Management options under schedule pressure. *Restoration Ecology*, 19, 83-92.

- Moral, R., Moreno-Caselles, J., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa, A., Rufete, B., Paredes C. 2005. Characterisation of the organic matter pool in manures. *Bioresource Technology*, 96, 153-158.
- Nicolau, J.M. 2002. Runoff generation and routing on artificial slopes in a Mediterranean–continental environment: the Teruel coalfield, Spain. *Hydrological Processes*, 16, 631-647.
- Pastor, J., Hernández, A.J. 2002. Estudio de suelos de vertederos sellados y de sus especies vegetales espontáneas para la fitorrestauración de suelos degradados y contaminados del centro de España. *Anales de Biología*, 24, 145-153.
- Patzelt, A., Wild, U., Pfadenhauer, J. 2001. Restoration of wet fen meadows by topsoil removal: vegetation development and germination biology of fen species. *Restoration Ecology*, 9, 127-136.
- Petersen, S., Roundy, B., Bryant, R. 2004. Revegetation methods for high-elevation roadsides at Bryce Canyon National Park, Utah. *Restoration Ecology*, 12 (2), 248-257.
- Raich, J.W., Schlesinger, W.H. 1992. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus*, 44B, 81-99.
- Redente, E.F., Doerr, T.B., Grygiel, C.E., Biondini, M.E. 1984. Vegetation establishment and succession on disturbed soils in northwest Colorado. *Reclamation and Revegetation Research*, 3, 153-165.
- Rey, A., Pegoraro, E., Tedeschi, V., De Parri, I., Jarvis, P.G., Valentini, R. 2002. Annual variation in soil respiration and its components in a coppice oak forest in Central Italy. *Global Change Biology*, 8, 851-866.
- Richards, L.A. 1954. *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. USDA US Govt. Printing Office, Washington, DC, USA. pp. 109-110.
- Rickson, R.J. 2006. Controlling sediment at source: an evaluation of erosion control geotextiles. *Earth Surface Processes and Landforms*, 31, 550-560.

- Rokich, D.P., Dixon, K.W., Sivasithamparam, K., Meney, K.A. 2000. Topsoil handling and storage effects on woodland restoration in Western Australia. *Restoration Ecology*, 8, 196-208.
- Ros, M., Hernandez, M.T., García, C. 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 463-469.
- Schnürer, J., Clarholm, M., Rosswall, T. 1985. Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents. *Soil Biolgy and Biochemistry* 17, 611-618.
- Scoles, S.J., DeFalco, L.A. 2003. The revegetation of disturbed areas associated with roads at Lake Mead National Recreation Area. Nevada. Report prepared for National Park Service. Lake Mead National Recreation Area. 11pp. [Technical Report].
- Shannon, C.E., Weaver, W. 1963. *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Champaign, IL, USA.
- Smilauer, P. 1993. *CanoDraw 3.0*. Environmental Change Research Centre, University College, London.
- Stafford, R.F. 1982. Fertilization and legume establishment on highway slopes. *Transportation Research Board*, 859, 19-24.
- Tang, J., Baldocchi, D.D. 2005. Spatial-temporal variation in soil respiration in an oak-grass savanna ecosystem in California and its partitioning into autotrophic and heterotrophic components. *Biogeochemistry*, 73, 183-207.
- Ter Braak, C.J.F., Šmilauer, P. 2002. *CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination* (version 4.5). Ithaca, NY, USA.
- Tormo, J., Bochet, E., García-Fayos, P. 2006. Is seed availability enough to ensure colonization success? An experimental study in road embankments. *Ecological Engineering*, 26, 224-230.

Tormo, J., Bochet, E., García-Fayos, P. 2007. Roadfill revegetation in semiarid mediterranean environments. Part II: Topsoiling, species selection, and hydroseeding. *Restoration Ecology*, 15, 97-102.

Traba, J., Levassor, C., Peco, B. 2003. Restoration of species richness in abandoned Mediterranean grasslands: seeds in cattle dung. *Restoration Ecology*, 11, 378-384.

Valladares, F., Alonso, C. 2001. Análisis ecológico de las medidas de revegetación de los taludes de la autopista de la Costa del Sol (Tramo A). Informe del proyecto TALMED (Ferrovia-Agroman, S.A.-CSIC).

Verstraete, W., Voets, J.P. 1977. Soil microbial and biochemical characteristics in relation to soil management and fertility. *Soil Biology and Biochemistry*, 9, 253-258.

Visser, S., Fujiikawa, J., Griffiths, C.L., Parkinson, D. 1984. Effect of topsoil storage on microbial activity, primary production and decomposition potential. *Plant and Soil*, 82, 41-50.

Walkley, A., Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 34, 29-38.

Ye, Z.H., Wong, J.W.C., Wong, M.H. 2000. Vegetation response to lime and manure compost amendments on acid Lead/Zinc mine tailings: A greenhouse study. *Restoration Ecology*, 8(3), 289-295.

Zhang, Z.Q., Shu, W.S., Lan, C.Y., Wong, M.H. 2001. Soil seed bank as an input of seed source in revegetation of lead/zinc mine tailings. *Restoration Ecology*, 9, 378-385.

Anexo C: Lista de especies presentes en las parcelas de cada uno de los tratamientos (Control, Tierra vegetal y Estiércol), durante los muestreos de vegetación de 2011.

Espece	Control	Tierra Vegetal	Estiércol
<i>Agrostis castellana</i> Boiss. & Reut.		x	
<i>Anacyclus clavatus</i> (Desf.) Pers.	x	x	x
<i>Andryala integrifolia</i> L.		x	
<i>Anthemis arvensis</i> L.	x	x	x
<i>Aphanes arvensis</i> L.		x	
<i>Aphanes microcarpa</i> (Boiss. & Reut.) Rothm.		x	
<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh. in Holl & Heynh	x	x	x
<i>Arenaria leptoclados</i> (Rchb.) Guss.			x
<i>Brassica barrelieri</i> (L.) Janka	x	x	
<i>Bromus hordeaceus</i> L.			x
<i>Bromus madritensis</i> L.	x	x	x
<i>Bromus rigidus</i> Roth		x	
<i>Bromus tectorum</i> L.		x	x
<i>Cardamine hirsuta</i> L.	x		
<i>Centaurea</i> sp		x	
<i>Cerastium</i> sp.		x	x
<i>Conyza</i> sp	x	x	x
<i>Crepis vesicaria</i> L.		x	x
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.		x	
<i>Epilobium brachycarpum</i> C. Presl	x	x	x
<i>Filago pyramidata</i> L.	x	x	
<i>Fumaria</i> sp	x	x	
<i>Galium aparine</i> L.		x	
<i>Galium parisiense</i> L.	x	x	
<i>Hymenocarpus cornicina</i> (L.) Vis.			x
<i>Jasione montana</i> L.		x	

Especie	Control	Tierra Vegetal	Estiércol
<i>Lamium amplexicaule</i> L.		X	
<i>Lathyrus angulatus</i> L.	X	X	
<i>Linaria spartea</i> (L.) Chaz.		X	
<i>Logfia minima</i> (Sm.) Dumort.			X
<i>Lolium rigidum</i> Gaudin	X		X
<i>Mibora minima</i> (L.) Desv.		X	
<i>Minuartia</i> sp		X	
<i>Muscari comosum</i> (L.) Mill.		X	
<i>Myosotis ramosissima</i> Rochel in Schultes	X	X	X
<i>Ornithopus compressus</i> L.	X	X	X
<i>Papaver argemone</i> L.		X	
<i>Papaver hybridum</i> L.		X	
<i>Papaver rhoeas</i> L.	X	X	X
<i>Poa annua</i> L.			X
<i>Polygonum aviculare</i> L.	X	X	X
<i>Ranunculus</i> sp			X
<i>Rumex acetosella</i> L.	X	X	X
<i>Sanguisorba minor</i> Scop		X	
<i>Senecio gallicus</i> Chaix		X	
<i>Senecio vulgaris</i> L.		X	
<i>Sesamoides interrupta</i> (Boreau) G. López	X	X	X
<i>Spergula arvensis</i> L.		X	
<i>Spergula pentandra</i> L.		X	
<i>Spergularia purpurea</i> (Pers.) D. Don			X
<i>Spergularia rubra</i> (L.) J. Presl & C. Presl	X	X	X
<i>Trifolium cherleri</i> L.	X	X	X
<i>Trifolium</i> sp		X	
<i>Trifolium subterraneum</i> L.		X	X
<i>Trisetum flavescens</i> (L.) P.Beauv.		X	X

Especie	Control	Tierra Vegetal	Estiércol
<i>Valerianella coronata</i> (L.) DC. in Lam. & DC.		x	
<i>Viola kitaibeliana</i> Schult. in Roem. & Schult.	x	x	
<i>Vulpia myuros</i> (L.) C.C.Gmel.	x		x
<i>Vulpia sp</i>		x	x

CAPÍTULO 4

EL DESTINO DE LAS SEMILLAS DE HERBÁCEAS DURANTE EL ACOPIO DE TIERRA VEGETAL: POTENCIAL RESTAURADOR DEL BANCO DE SEMILLAS

Este capítulo reproduce íntegramente el siguiente manuscrito:

Rivera, D., Jáuregui, B. M., Peco, B. 2012. The fate of herbaceous seeds during topsoil stockpiling: restoration potential of seed banks, *Ecological Engineering*, 44 94-101.



EL DESTINO DE LAS SEMILLAS DE HERBÁCEAS DURANTE EL ACOPIO DE TIERRA VEGETAL: POTENCIAL RESTAURADOR DEL BANCO DE SEMILLAS

Resumen

La tierra vegetal retirada durante la construcción de las infraestructuras es uno de los recursos más valiosos para la restauración ecológica de los taludes, ya que en ella se concentran una gran cantidad de semillas, microorganismos y nutrientes del suelo. En el proceso de construcción, la tierra vegetal se acopia de modo que pueden llegar a dañar la capacidad de germinación y de supervivencia de las semillas. Para poder evaluar los efectos del tiempo de acopio y la profundidad de enterramiento sobre la supervivencia, germinación y mortalidad de las semillas, se realizó un experimento con dos factores: tiempo (1 a 6 meses) y la profundidad de enterramiento (0, 5, 30 y 50 cm), replicado tres veces. A cada profundidad del acopio, se enterraron 25 semillas de 10 especies autóctonas de los pastos mediterráneos, pertenecientes a 5 familias distintas. Para ello se emplearon bolsas permeables de nylon. Además se midieron para cada especie el peso de las semillas y la respuesta funcional a la luz (LI) y la fluctuación diurna de la temperatura (DFT). Se analizó la supervivencia, germinación y mortalidad de las semillas durante el acopio usando GLMs binomiales. Las variables explicativas utilizadas fueron familia, profundidad de enterramiento, tiempo, peso de la semilla, LI y DFT. La supervivencia de las semillas disminuyó con el tiempo de acopio pero aumentó con la profundidad. La pérdida de semillas se debió a la germinación y mortalidad de las semillas en el acopio. El porcentaje de germinación aumentó con el tiempo pero disminuyó con la profundidad de enterramiento. Este parámetro se relacionó negativamente con LI y DFT. La mortalidad aumentó significativamente con el tiempo y la profundidad de enterramiento y se relacionó negativamente con el peso de las semillas. Estos resultados sugieren que en los acopios de tierra vegetal se produce una pérdida de semillas viables, especialmente importante en el caso de las semillas de mayor tamaño. Nuestros resultados destacaron la importancia de los requerimientos de

luz y la detección de las oscilaciones diarias de temperatura como mecanismo para alcanzar una mayor persistencia de las semillas en el suelo. Un manejo adecuado de la tierra vegetal es decisivo para la restauración de los taludes. El potencial de germinación de las semillas disminuye con el tiempo de almacenamiento y con la profundidad de enterramiento y como consecuencia se produce una seria pérdida de semillas, resultando en un empobrecimiento de la tierra vegetal, recurso principal para la restauración de estos ecosistemas. La pérdida de semillas viables es menor en las capas más profundas del acopio, por lo que acopios más grandes y de menor duración podrían reducir la pérdida de semillas y aumentar, por tanto, el potencial restaurador de la tierra vegetal.

Palabras clave: germinación, peso de la semilla, profundidad de enterramiento, talud, tiempo de almacenamiento, viabilidad.

THE FATE OF HERBACEOUS SEEDS DURING TOPSOIL STOCKPILING: RESTORATION POTENTIAL OF SEED BANKS

Abstract

Topsoil removed during linear infrastructure construction is one of the most valuable resources for the ecological restoration of roadslopes, as it contains high concentrations of micro-organisms, nutrients and seeds. During construction work, topsoil is stockpiled in a way that can harm seed germination and survival capacity. In order to assess the effects of topsoil storage time and seed burial depth on seed survival, germination and mortality, an experiment with three replicates was conducted using two factors: time (1-6 months) and burial depth (0, 5, 30 and 50 cm). At each stockpile depth we buried 25 seeds from 10 natural grassland species (5 families) in permeable nylon sachets. Seed mass and seed functional responses to light (LI) and diurnal temperature fluctuations (DTF) were also measured for each species. Seed survival, germination and mortality during stockpiling were analysed using binomial GLMs. Explanatory variables were family, depth of burial, time, seed mass, LI and DTF responses. Seed survival decreased with storage time but increases with depth. Seed losses were due to seed germination and mortality in the stockpile. Germination percentage increased with time but decreased with burial depth. This parameter was negatively related to LI and DTF. Mortality increased significantly with time and depth and was negatively related to seed mass.

Results show that there may be a loss of viable seeds in topsoil stockpiles, particularly in the case of large seeds. Our results also underline the functional role of light requirements for germination and the detection of diurnal temperature fluctuations as mechanisms to achieve higher soil seed persistence. The correct management of topsoil is decisive for the restoration of roadslopes. Seed germination potential decrease with time of storage and burial depth, consequently a serious loss of seeds conducts an impoverishing of topsoil, which is the main natural resource for the restoration of these

disturbed ecosystems. Viable seed loss is lower in deeper layers of the stockpile, so short-period topsoil storage and bigger stockpiles could reduce seed loss and increase thus the restoration potential of topsoil.

Keywords: burial depth, germination, roadslope, seed mass, storage time, viability.

Introduction

Recently built roadslopes are hostile environments for the recovery of vegetation cover due to a lack of nutrients, the coarse texture of the embankment material (Sheldon and Bradshaw 1977; Jim 2001; Elmarsdottir et al. 2003), the lack of organic matter (Muzzi et al. 1997; Albaladejo et al. 2000) and the initial lack of viable seeds in the substrate (Balaguer 2002). Additionally, there is significant erosion in these systems due to their steep slopes and scarce initial plant cover (Grace 2002; Bochet and Garcia-Fayos 2004), with high environmental, and economic costs (Arnáez and Larrea 1995; Nicolau 2002). Roadslopes thus have particular characteristics in which the restoration of the vegetation cover is of great importance and complexity for the infrastructure management companies (García-Fayos et al. 2000). Its recovery begins once the road infrastructure is completed through techniques such as hydroseeding (Enríquez et al. 2004; Matesanz et al. 2006), plantations (Jochimsen 2001; Holl 2002), and/or geotextile mesh (Rickson 2006; Benik et al. 2003; Mitchell et al. 2003). Topsoil, the top 30 cm of soil removed during the initial construction stage of linear infrastructure projects, is usually spread on the roadslopes prior to the use of any of these techniques (Bote et al. 2005; Tormo et al. 2007; Mola et al. 2011). This topsoil has a high content in organic matter and is important on account of its high content in native seeds (Rokich et al. 2000; Holmes 2001; Tormo et al. 2007), nutrients and microorganisms, all of which contribute to the establishment and stabilization of the plant cover (Zhang et al. 2001; Bote et al. 2005; Tormo et al. 2007). Topsoil is normally stored for varying periods of time and later spread when the slopes are completed. It is described in environmental impact abatement regulations as one of the major ecosystem restoration measures for ensuring a

diverse, self-sustaining ecosystem that can withstand disturbance (Newman and Redente 2001). However, little research has been done on the most suitable method for topsoil stockpiling and management with a view to optimizing the viable and germinable seed content once it has been spread across the slope.

Current practices include topsoil storing in the form of stockpiles or trapezoidal ridges no more than 2 m high to prevent compaction of the underlying layers (Balaguer 2002). The reasons for these stockpile dimensions have not been tested, and temperature, light, soil moisture and other factors may influence the viability of the buried seeds (Baskin and Baskin 1998; Scoles and DeFalco 2003). Moreover, if the topsoil is to remain stockpiled for more than six months, nitrogen-fixing legumes are often sown or fertilizers added to preserve the soil properties (Balaguer 2002). The effectiveness of these techniques is also questionable, since topsoil contains its own seed bank whose richness and diversity can prompt the establishment of plant cover, although the effect of this action is unknown.

The timing and depth of the topsoil stockpile process has considerable impact on the number of viable seeds. The relationship between burial depth and seed persistence is one aspect that has been studied in different environments (Leishman and Westoby 1998; Benvenuti et al. 2001; Grundy et al. 2003), focusing on the relationship between seed burial and germination (Chen and Maun 1999) and emergence ability (Ward et al. 1996; Bowen et al. 2005; Hall et al. 2010). Rokich et al. (2000) found that after 3 years of storage, over 50% of the seed germination capacity is lost, and Scoles and DeFalco (2003), detected a 79% loss of seeds during the topsoil stockpiling phase in a road construction experiment. We know that the seed burial depth in the topsoil spread following storage influences the seed germination and establishment capacity, with the optimum depth equal to or less than 2 cm for herbaceous species (Andrade et al. 1997; Torma and Hodi 2000; Traba et al. 2004). Many seed bank studies have found that most seeds lie in the top 5 cm (Fenner and Thompson 2005; Traba et al. 2006). We also know that in seasonal environments such as temperate and Mediterranean zones, the bank's viable seed content peaks in late summer (Thompson and Grime 1983; Ortega et al. 1987). However, to date little research has been done on the functional traits of the

seeds that make them more vulnerable to long periods of storage in soil (Saatkamp et al. 2010). The combination of seed burial experiments with studies of the morphological and physiological characteristics of seed germination, will facilitate the prediction of the germination and survival of buried seeds (Milberg and Anderson 1998; Baskin and Baskin 2006).

The overall aim of the present study is to experimentally analyse the effect of burial depth and topsoil storage time on the restoration potential of the seeds contained in stockpiles. The specific research questions are the following: (a) What are the effects of burial time and depth on the survival, germination and seed mortality percentages? (b) What are the effects of burial time and depth on the germination of seeds that survive stockpiling? (c) Are these parameters related to seed functional traits such as mass and germination response to light and temperature changes? and (d) How do environmental conditions in the stockpile (temperature, soil moisture, daily temperature fluctuation) vary in terms of time and depth?

Material and methods

Study site and species

The study area was northwest of Madrid (Spain, 40°32'39"N, 3°41'10"W), surrounded by grasslands of annual species resulted from the abandonment of agriculture about 40 years ago. *Bromus hordeaceus*, *Bromus tectorum* and *Avena barbata* are some of the dominant species. Some scattered individuals of broom, *Retama sphaerocarpa*, are also present in the site which is located on sandstone, conglomerates and acidic clays. Average annual rainfall was 400 mm, with average temperature minima and maxima of 7.6 °C and 21 °C respectively (AEMET. Historical average 1971-2000)

In June and July 2009, seeds were collected from 10 abundant grass species from five families in the study area. The selected species were: *Tolpis barbata* (L.) Gaertn. and *Crepis capillaris* (L.) Wallr. (Compositae); *Bromus hordeaceus* L. and *Vulpia muralis*

(Kunth) Nees, (Poaceae); *Trifolium campestre* Schreb. in Sturm and *Trifolium dubium* Sibth. (Fabaceae); *Petrorhagia nanteuillii* (Burnat) P.W. Ball and Heywood and *Spergularia purpurea* (Pers.) D. Don (Caryophyllaceae) and *Plantago coronopus* L. and *Plantago lagopus* L. (Plantaginaceae). Seeds from at least 10 individuals from a large population were collected and mixed. Seed material was stored in dry, dark lab conditions prior to the experiments.

Seed trait measurement

Three parameters were measured to characterize the collected seeds: seed mass and the effect of light and daytime temperature fluctuations on germination. Average seed mass was calculated by weighing 10 samples of 50 seeds from each species, except for *Spergularia purpurea* for which we weighed 10 samples of 100 seeds due to their small size.

The effects of light and diurnally fluctuating temperatures on germination were measured in two controlled phytotron experiments (Ibercex V-450-D ASL, SA, Madrid), with OSRAM L 18W/20 fluorescent lamps. The seeds were placed in 5 cm diameter Petri dishes on filter paper (73g m⁻²) above a 2.5 g vermiculite substrate. The number of germinated seeds per plate was noted at the end of the experiment after 21 days in the phytotron. Distilled water was added daily to maintain moisture. The specific experimental conditions of each experiment were:

- a) *Light response*: Three replicates containing 25 seed from each of the 10 species were incubated for 16 h (25 °C) light and 8 h (15 °C) darkness, and compared with three replicates of 25 seeds from the same ten species for 16 h (25 °C) and 8 h (15 °C) darkness. The plates in darkness were covered with aluminium foil, with water added in this case in camera obscura. A light response index (LI) was defined as the percentage of germinations under light conditions divided by the sum of the percentages of germination in light and darkness.
- b) *Diurnal temperature fluctuation response*: Three replicates containing 25 seeds from each of the 10 species were incubated for 16 h (25 °C) light and 8 h (15 °C)

dark, with a further three replicates maintained for 16 h (20 °C) light and 8 h (20 °C) darkness. We calculated the diurnal temperature fluctuation response index (DTF) as the germination percentages under temperature fluctuations, divided by the sum of germination percentages under temperature fluctuations plus germination percentages under constant temperature conditions.

Seed burial experiment

Prior to the first autumn rains in October 2009, the top 30 cm of topsoil from a former crop field was removed with a backhoe to replicate the usual road building process. This topsoil was stored in a north-south oriented stockpile measuring 30 m long, 1.5 m high and 3 m wide. The experimental design consisted of three factors: time (6 months, October 2009 to March 2010), depth (4 levels: 0, 5, 30 and 50 cm) and species nested in family (2 species/5 families) with three replicates ($n = 720$). For the seed burial, 18 points set at least 1 m apart were chosen at random along the south side of the stockpile. At each point and at the four depths, we buried ten permeable 7 x 5.5 cm nylon sachets (1 sachet per species) with 25 seeds per sachet. All sachets were removed from the four depths at three of the stockpile points at monthly intervals to count the germinated and ungerminated seeds using a microscope. The latter were classified as viable (intact firm seeds) or dead seeds (rotten seeds and those that collapsed when pinched gently). These data were used to calculate percentages of survival (viable/total seeds), germination (germinated/total seeds) and mortality (dead seeds/total seeds) in the soil stockpile for each time and burial depth. The Tetrazolium test (Cottrell 1947) was not applied to confirm seed viability, as their small size made cutting the seed to expose the embryo for staining without their alteration non-viable. Moisture (ECH2O Decagon Devices, Inc.) and inserted temperature sensors (TMC6-HD) at two of the chosen points at 5, 30 and 50 cm depths in order to monitor the environmental conditions in the stockpile.

Seed germinability after burial experiment

To detect whether depth and time spent in the stockpile changed the germination potential of seeds that had survived the burial experiment when they were reinserted under favourable germination conditions, ungerminated but firm seeds in the field (viable seeds) were subjected to a phytotron germination experiment. The seeds were placed in 5 cm diameter Petri dishes on filter paper (73 g m^{-2}) with a base vermiculite 2.5 g, left in the phytotron for 21 days for 16 h (25 °C) light and 8 h (15 °C) darkness. Daily monitoring for germinations was conducted and distilled water was added to maintain moisture. At the end of this period, the germinated seeds were counted and the percentage of germinations was calculated (number of germinated seeds/number of viable seeds after the field experiment) for each time and burial depth.

Data analysis

To ascertain whether storage time and burial depth affected the restoration potential of the seeds in the stockpile, we applied generalized linear models (GLM) (Mc Cullagh and Nelder 1989) with a binomial error distribution and logit link function for the response variables: percentage of survival, germination and mortality of seeds in the stockpile, as recommended by Crawley (1993). Depth in the model was defined as a fixed factor with four levels, while the species nested in family was defined as a random factor. Burial time was used as a covariate.

Additional GLMs were performed to interpret the reasons for variations in percentages of survival, germination and mortality of each species on the basis of seed traits (seed mass, LI and DTF). In these models, depth was used as a fixed factor, family as a random factor and time and each seed trait separately as covariates. When the inclusion of a seed trait in the model was significant, its relationship with the response variable was assessed via the Beta coefficient. We also calculated the Pearson correlation coefficients amongst seed traits. Seed mass was log transformed to fulfil the normality assumption.

We calculated monthly means of average daily temperatures, daily temperature fluctuation and relative humidity. A repeated measures ANOVA (time) was performed for each of these variables with depth as the fixed factor with three levels (5, 30 and 50 cm).

The germination percentage of viable seeds after the burial experiment was also analysed using a general linear model (GLM) with binomial error distribution and logit link function. Depth was a fixed factor with four levels in the model, while the species nested in family was defined as a random factor. Burial time was used as the covariate.

SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used in all analyses.

Results

Restoration potential: survival, germination and mortality in the stockpile vs. seed traits

Seed survival percentages decreased significantly with increasing storage time in the stockpile (Table 1, Figure 1), with mean differences above 40% between the first and sixth month. This decrease was more pronounced for seeds on the surface or buried at 5 cm than at more than 30 cm (Table 1, Figure 2). Significant differences between species were also found (Table 1). This parameter was positively related to seed mass, LI and DTF (Table 2).

Germination percentages were negatively correlated with survival ($r = -0.84$, $P = 0.002$). Unlike survival, germination increased with time, reaching values of around 20% at 6 months of burial, and decreased with burial depth. An average of 20% more seeds germinated on the surface or at 5 cm depth than at more than 30 cm (Table 1, Figure 1). Germination percentages depended on the species (Table 1), and were negatively associated with LI and DTF (Table 2), while seed mass was not significant in this case.

Table 1: Summary of generalized linear model for response variables (% of survival, germination and mortality).

Response variables	Explanatory variables	Levels	X ² de Wald	β	f.d.	P
Survival	Intercept		2607.21	2.88	1	< 0.001
	Stockpiling time		1426.76	-0.55	1	< 0.001
	Burial depth		631.50		3	< 0.001
		0 cm	42.65	-0.99	1	< 0.001
		5 cm	355.52	-2.69	1	< 0.001
		30 cm	4.42	0.38	1	0.036
		50 cm	-	0	-	-
	Family (Species)		889.60		9	< 0.001
	Stockpiling time*		386.76		3	< 0.001
Germination	Intercept		1582.61	-3.56	1	< 0.001
	Stockpiling time		400.60	0.51	1	< 0.001
	Burial depth		712.97		3	< 0.001
		0 cm	99.39	2.13	1	< 0.001
		5 cm	385.39	4.06	1	< 0.001
		30 cm	7.07	-0.84	1	< 0.01
		50 cm	-	0	-	-
	Family (Species)		1274.18		9	< 0.001
	Stockpiling time*		363.40		3	< 0.001
Mortality	Intercept		2745.28	-4.27	1	< 0.001
	Stockpiling time		898.65	0.50	1	< 0.001
	Burial depth		122.34		3	< 0.001
		0 cm	23.16	-0.34	1	< 0.001
		5 cm	50.67	-0.53	1	< 0.001
		30 cm	8.33	0.19	1	0.004
		50 cm	-	0	-	-
	Family (Species)		572.48		9	

Mortality percentages increased significantly with time to a peak of around 20% at 6 months of burial (Table 1, Figure 1). This parameter also increased very slightly with burial depth (Table 1, Figure 1), the lowest mortality found in seeds on the surface or buried at 5 cm (Figure 1). In this case, the interaction term (stockpiling time x burial depth) was not significant ($X^2_{3,720} = 7.64$; $P > 0.05$). Species also had a significant effect (Table 1). This parameter was negatively related to seed mass. Its relationship was not statistically significant with either LI or DTF (Tables 2 and 3).

Finally, there was a negative correlation between seed mass and LI ($r = -0.67$, $P = 0.03$) but there was no significant relationship between either of these two parameters and DTF ($r = 0.07$, $P = 0.86$ for seed mass and $r = -0.11$, $P = 0.77$ for LI).

Table 2: Summary of generalized linear models for response variables (survival, germination and mortality percentages). Explanatory variables t: stockpiling time, depth: burial depth, family, seed mass, LI: light response index and DTF: diurnal temperature fluctuation response index.

Response variables	Model	Deviance	X ² de Wald	P	β
Survival	t+ depth+family	6095			
	t+ depth+family+ seed mass	6026	67.00	<0.001	0.51
	t+ depth+family+ LI	6087	7.17	<0.007	0.40
	t+ depth+family+DTF	6079	15.89	<0.001	1.39
Germination	t+ depth+family	5037			
	t+ depth+family+ seed mass	5037	0.00	0.992	-
	t+ depth+family+ LI	5032	4.19	<0.041	-0.39
	t+ depth+family+DTF	5006	30.55	<0.001	-2.50
Mortality	t+ depth+family	3611			
	t+ depth+family+ seed mass	3460	193.80	<0.001	-1.13
	t+ depth+family+ LI	3617	1.44	0.230	-
	t+ depth+family+DTF	3618	0.22	0.639	-

Environmental conditions in the stockpile

The results of the repeated measures ANOVA for mean monthly soil moisture and soil temperature showed a significant and quadratic effect of time ($F_{1,2} = 60.28$, $P = 0.04$ and $F_{1,2} = 3897.62$, $P < 0.001$, respectively, Figure 2), although there was no effect of depth on these parameters ($F_{2,6} = 3.34$, $P = 0.17$ and $F_{2,6} = 0.85$, $P = 0.51$, respectively). However, in the case of the daily temperature fluctuation, there was a significant effect of depth ($F_{2,6} = 22.43$, $P = 0.016$). This parameter was higher on the surface (Figure 2),

and there were no significant effects for time ($F_{1,2} = 2.35$, $P = 0.22$, linear, and $F_{1,2} = 14.89$, $P = 0.08$, quadratic).

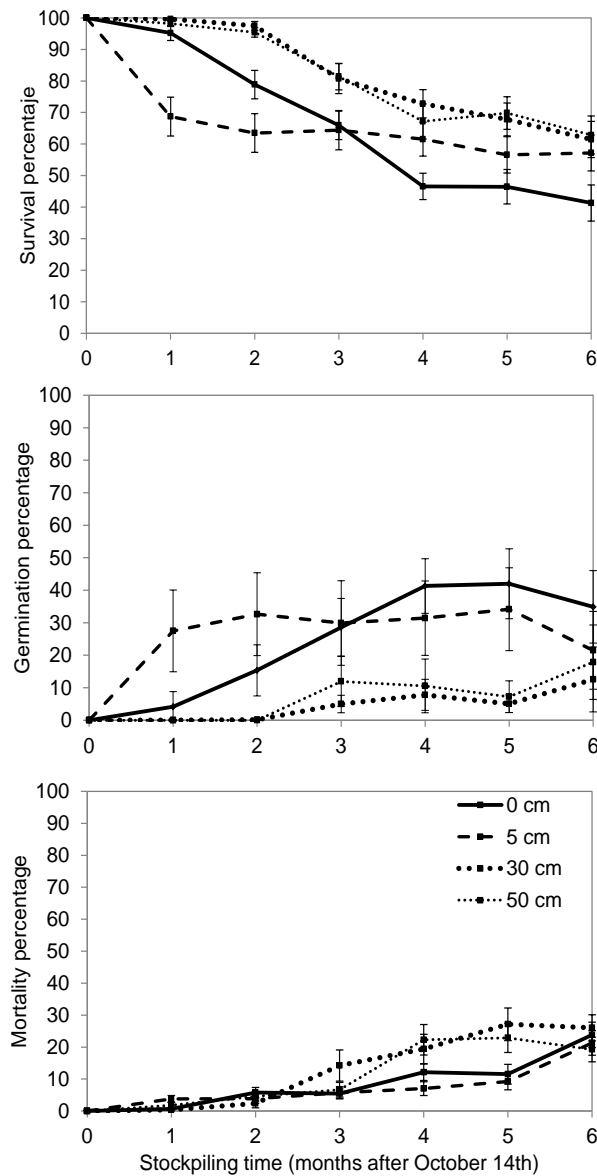


Figure 1: Mean for survival, germination and mortality for each burial depth (from 0 to 50cm) through time. N = 720. Bars indicate SE.

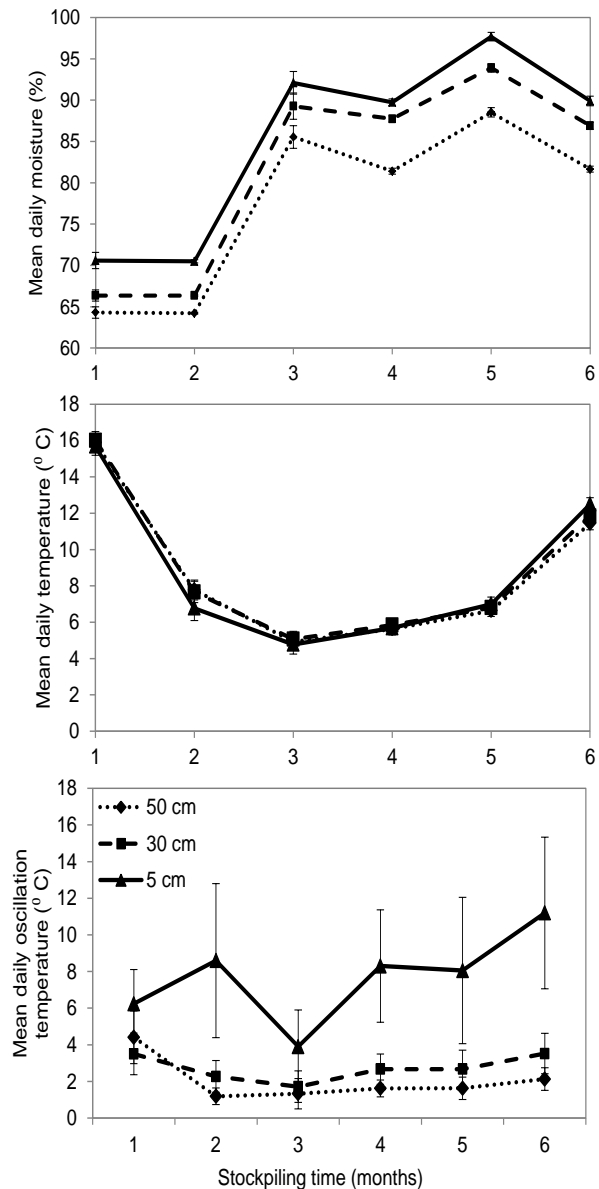


Figure 2: Mean daily soil moisture (%), mean daily temperature (°C) \pm SE and mean daily oscillation temperature (°C) \pm SE, at different depths from 5 to 50cm. N = 182.

1 **Table 3:** Mean \pm SD for LI (light response index), DTF (diurnal temperature fluctuation index) and seed mass and estimates (β) with P for survival,
2 germination and mortality for each species.

Species	LI index	DTF index	Seed mass (mg)	β Survival	P	β Germination	P	β Mortality	P
<i>Bromus hordeaceus</i>	0.5 \pm 0.010	0.5 \pm 0	1.684 \pm 0.102	-0.083	0.263	0.251	0.002	-0.721	<0.001
<i>Crepis capilaris</i>	0.560 \pm 0.130	0.643 \pm 0.176	0.099 \pm 0.032	0.242	<0.001	-1.527	<0.001	1.328	<0.001
<i>Petroragia nanteulii</i>	0.753 \pm 0.146	0.500 \pm 0	0.295 \pm 0.007	1.952	<0.001	-2.339	<0.001	-0.631	<0.001
<i>Plantago coronopus</i>	0.789 \pm 0.164	0.461 \pm 0.079	0.136 \pm 0.018	0.565	<0.001	-1.188	<0.001	0.603	<0.001
<i>Plantago lagopus</i>	0.631 \pm 0.053	0.508 \pm 0.032	0.405 \pm 0.028	1.250	<0.001	-1.597	<0.001	-0.161	0.202
<i>Spergularia purpurea</i>	0.951 \pm 0.042	0.467 \pm 0.030	0.022 \pm 0.003	1.096	<0.001	-2.138	<0.001	0.596	<0.001
<i>Tolpis barbata</i>	0.898 \pm 0.055	0.465 \pm 0.019	0.099 \pm 0.007	0.546	<0.001	-1.423	<0.001	0.856	<0.001
<i>Trifolium campestre</i>	0.931 \pm 0.119	0.669 \pm 0.285	0.217 \pm 0.010	1.179	<0.001	-1.498	<0.001	-0.157	0.214
<i>Trifolium dubium</i>	0.601 \pm 0.211	0.544 \pm 0.236	0.235 \pm 0.022	0.500	<0.001	-0.929	<0.001	0.402	<0.001
<i>Vulpia muralis</i>	0.563 \pm 0.012	0.521 \pm 0.018	0.310 \pm 0.013	0.000	-	0.000	-	0.000	-

Effect of burial on subsequent seed germinability

The analysis of hard seed germination percentages following the burial experiment under controlled conditions showed a significant effect of time and depth (Table 4). Germination percentages generally decreased with burial time, although this decrease was more drastic for seeds on the stockpile surface (Figure 3). Species once again had a significant effect in this case (Table 4).

Table 4: Summary of Generalized Linear Model for phytotron germination of surviving seeds from the burial experiment.

Explanatory variables	Levels	X ² de Wald	β	f.d.	P
Intercept		325.98	0.63	1	<0.001
Stockpiling time		1457.53	-0.52	1	<0.001
Burial depth		302.40		3	< 0.001
	0 cm	171.33	2.00	1	< 0.001
	5 cm	33.59	-0.75	1	< 0.001
	30 cm	3.77	-0.23	1	0.052
	50 cm	-	0	1	-
Stockpiling time * Burial depth		304.52		3	< 0.001
Family (Species)		816.38		9	< 0.001
<i>Bromus hordeaceus</i>		29.50	0.58	1	< 0.001
<i>Crepis capilaris</i>		1.44	0.12	1	0.230
<i>Petroragia nanteulii</i>		0.40	0.06	1	0.529
<i>Plantago coronopus</i>		16.98	0.41	1	< 0.001
<i>Plantago lagopus</i>		25.40	0.50	1	< 0.001
<i>Spergularia purpurea</i>		84.85	0.90	1	< 0.001
<i>Tolpis barbata</i>		56.49	0.75	1	< 0.001
<i>Trifolium campestre</i>		169.63	-1.71	1	< 0.001
<i>Trifolium dubium</i>		115.21	-1.34	1	< 0.001
<i>Vulpia myurus</i>		0	0		-

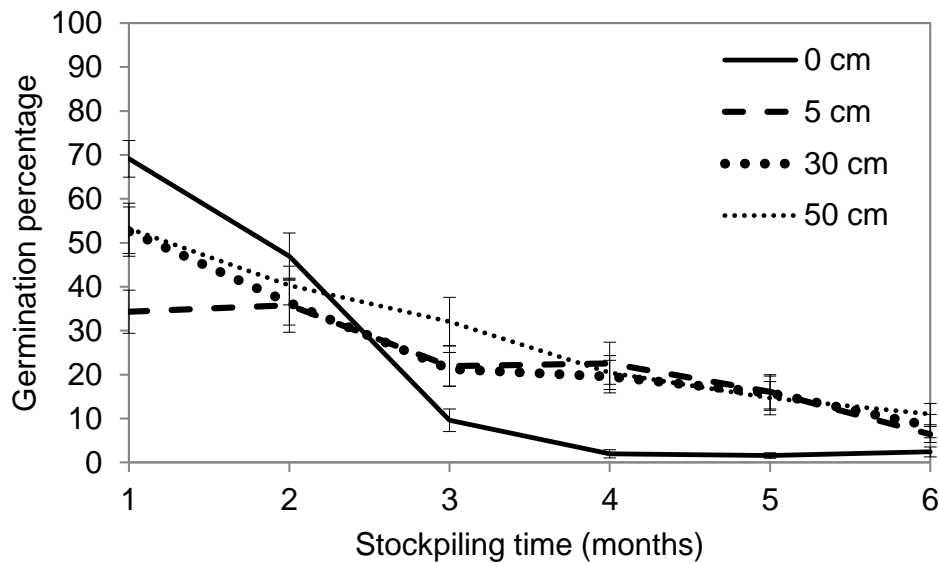


Figure 3: Phytotron germination percentages after stockpiling (time=months after October 14), at different depths from 0 to 50cm. N = 695. Bars indicate SE.

Discussion

The main findings of the experiment are that in topsoil stockpiles there is a loss of viable seeds, particularly important in the case of large seeds. Higher soil seed persistence depends on mechanisms such as the role of light requirements for germination and the detection of diurnal temperature fluctuations. As expected seed germination potential decreases with time of storage and burial depth, whereas viable seed loss is lower in deeper layers of the stockpile.

The restoration potential of seeds in the stockpiled topsoil, measured as the percentage of survival of experimentally buried seeds, decreased by 40% after 6 months of stockpiling, especially near surface. This decrease was due in equal measure to the increased germination percentage and the increased mortality of seeds in the stockpile, peaking at around 20% for both parameters at the end of the six month experimental period.

The negative effect of burial depth on germination found in this study could be due to the worse light conditions and the smaller temperature fluctuation, amongst other factors, in the deeper soil layers during the experiment. We know that light barely penetrates soil (Benvenuti 1995), and the absence of light can completely suppress the germination of many species (Wesson and Wareing 1969; Grime 1989; Milberg et al. 2000). Our data confirm that there are greater temperature fluctuations on the surface than at depth, which can favour the germination of certain species (Quinlivan 1966, Taylor 1981; Fenner and Thompson 2005). Other possible causes of this negative effect could be the reduction of oxygen concentration with depth (Benvenuti and Machi 1995; Fenner and Thompson 2005), which accelerates fermentative metabolism, or the inhibition of their own and nearby seed germination through the production of gases (Wesson and Wareing 1969), but not to the soil moisture.

Germination increased with seed storage time, except in the layer immediately below the surface (0-5 cm), where germination was detected in the first month of the experiment (November 2009), but underwent no further increase. The reason may be the very low rainfall in the autumn of the experimental period (69.7mm between September and November 2009 compared to the 30-year average of 111mm for the same period). We therefore estimate that the loss of viable seeds for germination should be greater in years with more autumn rainfall, as most of these annual species are autumn germinators (Ortega et al. 1987; Baskin and Baskin 1998).

Seed mortality was very low at the start of the experiment, but increased with burial time to around 20% after six months of stockpiling. Although the soil macrofauna and megafauna may potentially consume buried seeds, the pore size of the nylon sachet encasing the seeds makes this an unlikely cause of mortality. At this point, attack by pathogens such as microorganisms and fungi seems to be a more plausible contributing factor for the rise in mortality over time (Wesson and Wareing 1969; Wagner and Mitchunas 2008), perhaps as a result of a contagious increase amongst adjacent seeds, as observed by Van Mourik et al. (2005). The increase in soil moisture during the experiment was possibly responsible for the pathogen attack (Blaney and Kotane 2001;

Schafer and Kotane 2003). Mortality also increased with burial depth, but very slightly. This could be related to seed mortality due to anoxia (Ibrahim and Roberts 1983).

We found a negative relationship between seed mass and mortality, probably because large-seeded species invest more resources in their coats and are thus better protected against pathogens (Baskin and Baskin 1998; Fenner and Thompson 2005). Other authors have found that small seeds are more vulnerable to pathogens (Crist and Friesse 1993). Our results also show a negative relationship between germination percentages and the calculated response rates to light and temperature fluctuation. Increased germination under high temperature fluctuations has been described as a gap detection mechanism (Thompson et al. 1977; Grime et al. 1981; Thompson and Grime 1983), but it allows seeds to detect their burial depth as well (Fenner and Thompson 2005). These two mechanisms used by seeds to detect whether or not they are near the surface thus seem to protect them from suicidal germination (Fenner and Thompson 2005). Seed mass was not significant in the germination model due to its negative correlation with the response rate to light. This mechanism enables small seeded species to avoid germination at depth. Previous studies (Ren et al. 2002; Traba et al. 2006; Calado et al. 2009) have shown that many of the seedlings from small-seeded grasses which germinate below the first 5 cm of topsoil, fail to emerge. Nevertheless, the results of the present experiment show that germination was very scarce below 5 cm, and is greater in large seeds ruling out the hypothesis that stockpiling produces high suicidal seed germination. Other authors have found that large seeds have a greater ability to germinate at depth (Chen and Maun 1999), because they have more reserves for mobilization when required for seedlings to emerge on the surface (Fenner and Thompson 2005). Furthermore, some authors interpret the greater germination ability of large-seeded species as an adaptation to elude predation, given that large seeds are subject to more predation (Moles et al. 2003). Whatever the reason, large seeds are clearly less able to form persistent banks (Thompson et al. 1993; Peco et al. 2003).

The response by the seeds under control conditions that remained hard after exhumation showed a gradual decrease in the number of germinations over time. This decrease was more pronounced on the surface than at the other depths. The simplest explanation is

that the surface moisture and light conditions may have favoured seed germination, and that the only complete, hard seeds left on the surface were the fraction with some type of dormancy, while the worse conditions for germination in depth probably permitted the preservation of a fraction of viable seeds without physical or physiological dormancy, which germinated as soon as they were exposed to optimum greenhouse conditions. There is thus a depletion of readily germinable seeds on the surface over time, forcing the restorative capacity of the seed bank following topsoil stockpiling to depend on the germination capacity of seeds that were located deeper in the stockpile. It therefore seems advisable to adapt stockpile dimensions to a smaller surface area per unit volume. However, this recommendation seems to conflict with the maintenance of aerobic microbial communities in topsoil stockpiled to restore the vegetation cover (Harris et al. 1996).

It is important to emphasize that in this study we have assessed the restoration potential of topsoil for the restoration of roadslopes, which contributes to reduce the uncertainty of the mechanisms that operate in the restoration of these systems. Other field experiments would be necessary to elucidate the direct effect of burial depth and timing on the restoration of the vegetation.

Conclusions

Stockpile size and timing influences seed bank restoration potential, and the seed viability declines irreversibly with increasing time and burial depth. This decline was due to seed germination and mortality. The loss of viable seeds due to germination decreased with depth, as a response to the slight temperature oscillations and light while seed mortality scarcely increased, particularly in small seeded species, suggesting a greater restoration potential of the deep layers in the stockpile. Seeds that germinate in topsoil stockpiles do not aid their revegetation potential, either because they die from suicidal germination, when they germinate at depths where seedlings are incapable of emerging due to their small size or, in the case of surface germination and

establishment, they die when the stockpiled topsoil is spread mechanically across the area to be restored.

Germination on the stockpile surface only increases the topsoil's revegetation potential when these germinated seedlings complete their life cycle in the stockpile and recharge the topsoil with seeds from this new generation. However, this recharge rarely occurs. Nevertheless, the restoration potential of viable seeds contained in topsoil depends on a combination of the timing of the topsoil stockpiling and its subsequent spread on the area to be restored. In Mediterranean environments, summer is the optimum period for topsoil removal, coinciding with the peak number of viable seeds in the seed bank. It should be spread as soon as possible, prior to the first autumn rains in order to minimize the loss of viable seeds through germination or seed mortality. If these recommendations cannot be followed, the topsoil handling procedure is decisive for the successful restoration of heavily disturbed systems such as roadslopes.

Acknowledgements

This paper is a description of work by the Obrascón Huarte Lain S.A. Corporation (OHL) in collaboration with the Ecology Department of the Autónoma University of Madrid. It is part of a broader industrial research project, CENIT-OASIS (Safe, Intelligent and Sustainable Highway Operation), approved under CENIT tender 2008-2011. Grants have been received from the Ministry of Science and Innovation's Centre for Industrial and Technology Development (CDTI). The results presented in this paper are the property of the consortium promoting the project (OHL-Concesiones, IRIDIUM, ABERTIS, OHL, DRAGADOS, GEOCISA, GMV, ASFALTOS AUGUSTA, HIDROFERSA, EIPSA, PyG, CPS, AEC and TORRE DE COMARES). The project is jointly funded by Madrid Regional Government grants for research groups, REMEDINAL 2 S-2009/AMB/783, project GLO 2007-633827-BOS from the Ministry of Science and Innovation. We also thank the assistance by Torres Quevedo (PTQ-09-01-00728) for the employment of Dr. Berta M. Jáuregui by the corporation, under the

auspices of the Ministry of Science and Innovation and the mobility Salvador de Madariaga grant (PR2011-0491) for Begoña Peco.

References

- Albaladejo, J., Alvarez, J., Querejeta, J., Díaz, E., Castillo, V. 2000. Three hydro-seeding revegetation techniques for soil erosion control on anthropic steep slopes. *Land Degradation & Development*, 11, 315-325.
- Andrade, M.A., Pereira, D.D., Dornelas, G.V., Santos E.S.D. 1997. Influence of position and depth of sowing in the germination of seeds of *Caesalpinia leiostachya* Ducke. *Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi, Serie Botânica*, 11, 43-53.
- Arnáez, J., Larrea, V. 1995. Erosion processes and rates on road-sides of hill-roads (Iberian system, La Rioja, Spain). *Physics and Chemistry of the Earth*, 20, 395-401.
- Balaguer, L. 2002. Las limitaciones de la restauración de la cubierta vegetal. *Ecosistemas*, 11, 72-82.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M. 1998. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of dormancy and germination*. Academic Press. School of Biological Sciences. Lexington, Kentucky.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M. 2006. The natural history of soil seed banks of arable land. *Weed Science*, 54, 549-557.
- Benik, S.R., Wilson, B.N., Biesboer, D.D., Hansen, B., Stenlund, D. 2003. Evaluation of erosion control products using natural rainfall events. *Journal of Soil and Water Conservation*, 58, 98-105.
- Benvenuti, S. 1995. Soil light penetration and dormancy of jimsonweed (*Datura stramonium*) seeds. *Weed Science*, 43, 389-393.

- Benvenuti, S., Macchia, M. 1995. Effect of hypoxia on buried weed seed germination. *Weed Research*, 35, 343-351.
- Benvenuti, S., Macchia, M., Miele, S. 2001. Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. *Weed Science*, 49, 528-535.
- Blaney, C.S., Kotanen, P.M. 2001. Effects of fungal pathogens on seeds of native and exotic plants: a test using cogenetic pairs. *Journal of Applied Ecology*, 38, 1104-1113.
- Bochet, E., García-Fayos, P. 2004. Factors controlling vegetation establishment and water erosion on motorway slopes in Valencia, Spain. *Restoration Ecology*, 12, 166-174.
- Bote, D., Valladares, F.J., Matesanz, S., Tena, D. 2005. Importancia de la tierra vegetal en la vegetación de desmonte. *Ciencia y Técnica*, 19-24.
- Bowen, C.K., Schuman, G.E., Olson, R.A., Ingram, L.J. 2005. Influence of topsoil depth on plant and soil attributes of 24-year-old reclaimed mined lands. *Arid Land Research and Management*, 19, 267-284.
- Calado, J.M.G, Basch, G., de Carvalho, M. 2009. Weed emergence as influenced by soil moisture and air temperature. *Journal of Pest Science*, 82, 81-88.
- Chen, H., Maun, M.A. 1999. Effects of sand burial depth on seed germination and seedling emergence of *Cirsium pitcheri*. *Plant Ecology*, 140, 53-60.
- Cottrell, H.J., 1947. Tetrazolium salt as a seed germination indicator. *Nature*. 159, 748-748.
- Crawley, M.J., 1993. GLIM for Ecologists. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Crist, T.O., Friese, C.F., 1993. The impact of fungi on soil seeds: implications for plants and granivores in a semiarid shrub-steppe. *Ecology*. 74, 2231-2239.

- Elmarsdottir, A., Aradottir, A.L., Trlica, M.J. 2003. Microsite availability and establishment of native species on degraded and reclaimed sites. *Journal of Applied Ecology*, 5, 815-823.
- Enríquez, A., Carrasco, M.J., Varela, J.M. 2004. Seguimiento de la eficacia de la restauración vegetal de los taludes de autovías. *Ingeniería civil*, 134, 27-35.
- Fenner, M., Thompson, K. 2005. *The ecology of seeds*. Cambridge University Press.
- García-Fayos, P., Garcia-Ventoso, B., Cerdà, A. 2000. Limitations to plant establishment on eroded slopes in southeastern Spain. *Journal of Vegetation Science*, 11, 77-86.
- Grace, J.M. 2002. Effectiveness of vegetation in erosion control from forest road sideslopes. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 3, 681-685.
- Grime, J.P. 1989. Seed banks in ecological perspective. In: Leck, M.A., Parker, V.T., Simpson, R.L. (Eds.). *Ecology of Soil Seed Banks, XV-XXII*. London Academic Press, London.
- Grime, J.P., Mason, G., Curtis, A.V., Rodman, J., Band, S.R., Mowforth, M.A.G, Neal, A.M., Shaw, S. 1981. A comparative study of germination characteristics in a local flora. *Journal of Ecology*, 69, 1017-1059.
- Grundy, A.C., Mead, A., Burston, S. 2003. Modeling the emergence response of weed seeds to burial depth: interactions with seed density, weight and shape. *Journal of Applied Ecology*, 40, 757-770.
- Hall, S.H., Barton, C.D., Baskin, C.C. 2010. Topsoil seed bank of an Oak-Hickory forest in eastern Kentucky as a restoration tool on surface mines. *Restoration Ecology*, 18, 834-842.
- Harris, J.A., Birch, P., Palmer, J.P. 1996. *Land Restoration and Reclamation: Principles and practice*. Longman, Singapore.

- Holl, K.D. 2002. Effect of shrubs on tree seedling establishment in an abandoned tropical pasture. *Journal of Ecology*, 90, 179-187.
- Holmes, P.M. 2001. Invasion and mining: effects of topsoil depth, seed source, and fertilizer addition. *Restoration Ecology*, 9, 71-84.
- Ibrahim, A.E., Roberts, E.H. 1983. Viability of lettuce seeds I. Survival in hermetic storage. *Journal of Experimental Botany*, 34, 620-630.
- Jim, C.Y. 2001. Ecological and landscape rehabilitation of a quarry site in Hong Kong. *Restoration Ecology*, 1, 85-94.
- Jochimsen, M.E. 2001. Vegetation development and species assemblages in a long-term reclamation project on mine spoil. *Ecological Engineering*, 17, 187-198.
- Leishman, M.R., Westoby, M. 1998. Vegetation development and species assemblages in a long-term reclamation project on mine spoil. *Functional Ecology*, 12, 480-485.
- Matesanz, S., Valladares F.J., Tena D., Costa-Tenorio, M., Bote, D., 2006. Early dynamics of plant communities on revegetated motorway slopes from southern Spain: Is hydroseeding always needed? *Restoration Ecology*, 14, 297-307.
- Mc Cullagh, P., Nelder, J.A., 1989. *Generalized Linear Models. Monographs on Statistics and Applied Probability*. Chapman and Hall. London.
- Milberg, P., Anderson, L. 1998. Does cold stratification level out differences in seed germinability between populations? *Plant Ecology*, 134, 225-234.
- Milberg, P., Anderson, L., Thompson, K. 2000. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research*, 10, 99-104.
- Mitchell, D.J., Barton, A.P., Fullen, M.A., Hocking, T.J., Zhi, W.B., Zheng, Y. 2003. Field studies of the effects of jute geotextiles on runoff and erosion in Shropshire, UK. *Soil Use and Management*, 19, 182-184.

- Mola, I., Jiménez, M.D., López-Jiménez, N., Casado, M.A., Balaguer, L. 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: management options under schedule pressure. *Restoration Ecology*, 19, 83-92.
- Moles, A.T., Warton, D.I., Westoby, M. 2003. Do small-seeded species have higher survival through seed predation than large seeded species? *Ecology*, 84, 3148-3161
- Muzzi, E., Roffi, F., Sirotti, M., Bagnaresi, U. 1997. Revegetation techniques on clay soil slopes in northern Italy. *Land Degradation & Development*, 2, 127-137.
- Newman, G.J., Redente, E.F. 2001. Long-term plant community development as influenced by revegetation techniques. *Journal of Range Management*, 54, 717-724.
- Nicolau, J.M. 2002. Runoff generation and routing on artificial slopes in a Mediterranean–continental environment: the Teruel coalfield, Spain. *Hydrological Processes*, 16, 631-647.
- Ortega, M., Levassor, C., Peco, B. 1987. Seasonal dynamics of Mediterranean pasture seed banks along environmental gradients. *Journal of Biogeography*, 24, 177-195.
- Peco, B., Traba, J., Levassor, C., Sanchez, A.M., Azcárate, F.M. 2003. Seed size, shape and persistence in dry Mediterranean grass and scrublands. *Seed Science Research*, 13, 87-95.
- Quinlivan, B.J. 1966. The relationship between temperature fluctuations and the softening of hard seeds of some legume species. *Australian Journal of Agricultural Research*, 17, 625-631.
- Ren, J., Tao, L., Liuz, X. 2002. Effect of sand burial depth on seed germination and seedling emergence of *Calligonum* L. species. *Journal of Arid Environments*, 51, 603-611.
- Rickson, R.J. 2006. Controlling sediment at source: an evaluation of erosion control geotextiles. *Earth Surface Processes and Landforms*, 31, 550-560.

- Rokich, D.P., Dixon, K.W., Sivasithamparam, K., Meney, K.A. 2000. Topsoil handling and storage effects on woodland restoration in western Australia. *Restoration Ecology*, 8, 196-208.
- Saatkamp, A., Römermann, C., Dutoit, T. 2010. Plant functional traits show non-linear response to grazing. *Folia Geobot*, 45, 239-252.
- Schafer, M., Kotanen, P.M. 2003. The influence of soil moisture on losses of buried seeds to fungi. *Acta Oecologica*, 24, 255-263.
- Scoles, S.J., DeFalco, L.A. 2003. *The revegetation of disturbed areas associated with roads at Lake Mead National Recreation Area. Nevada*. Report prepared for National Park Service. Lake Mead National Recreation Area. 11 pp. (Technical Report).
- Sheldon, J.C., Bradshaw, A.D. 1977. Development of a hydraulic seeding technique for unstable sand slopes. Effects of fertilizers, mulches and stabilizers. *Journal of Applied Ecology*, 3, 905-918.
- Taylor, G.B. 1981. Effect of constant temperature treatments followed by fluctuating temperatures on the softening of hard seeds of *Trifolium subterraneum* L. *Australian Journal of Plant Physiology*, 8, 547-558.
- Thompson, K., Band, S.R., Hodgson, J.G. 1993. Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology*, 7, 236-241.
- Thompson, K., Grime, J.P. 1983. A comparative study of germination responses to diurnally fluctuating temperatures. *Journal of Applied Ecology*, 20, 141-156.
- Thompson, K., Grime, J.P., Mason, G. 1977. Seed germination in response to diurnal fluctuations of temperature. *Nature*. 267, 147-149.
- Torma, M., Hodi, L. 2000. Reproduction biology of Yellow Mignonette (*Reseda lutea* L.). *Journal of Plant Diseases and Protection*, S7, 159-165.

- Tormo, J., Bochet, E., García-Fayos, P. 2007. Roadfill revegetation in semiarid Mediterranean environments. Part II: Topsoiling, species selection, and hydroseeding. *Restoration Ecology*, 15, 97-102.
- Traba, J., Azcárate, F.M., Peco, B. 2004. From what depth do seeds emerge? A soil seed bank function experiment with Mediterranean grassland species. *Seed Science Research*, 14, 297-303.
- Traba, J., Azcárate, F.M., Peco, B. 2006. The fate of seeds in Mediterranean soil seed banks in relation to their traits. *Journal of Vegetation Science*, 17, 5-10.
- Van Mourik, T.A., Stomph, T.J., Murdoch, A.J. 2005. Why high seed densities within buried mesh bags may overestimate depletion rates of soil seed banks. *Journal of Applied Ecology*, 42, 299-305.
- Wagner, M., Mitschunas, N. 2008. Fungal effects on seed bank persistence and potential applications in weed biocontrol: a review. *Basic and Applied Ecology*, 9, 191-203.
- Ward, S.C., Koch, J.M., Ainsworth, G.L., 1996. The effect of timing of rehabilitation procedures on the establishment of a Jarrah forest after bauxite mining. *Restoration Ecology*, 4, 19-24.
- Wesson, G., Wareing, P.F. 1969. The role of light in the germination of naturally occurring populations of buried weed seeds. *Journal of Experimental Botany*, 20, 402-413.
- Zhang, Z.Q., Shu, W.S., Lan, C.Y., Wong, M.H. 2001. Soil seed bank as an input of seed source in revegetation of lead/zinc mine tailings. *Restoration Ecology*, 9, 378-385.

CAPÍTULO 5

¿LA TIERRA VEGETAL ACELERA LA DESCOMPOSICIÓN DE LA HOJARASCA EN LOS TALUDES?

Este capítulo reproduce íntegramente el siguiente manuscrito:

Jáuregui, B.M., Rivera, D., Peco, B. Does topsoil accelerate the decomposition of litter on roadslopes? (En revisión en Ecological Engineering).



¿LA TIERRA VEGETAL ACELERA LA DESCOMPOSICIÓN DE LA HOJARASCA EN LOS TALUDES?

Resumen

Objetivos: La tierra vegetal usada en los proyectos de restauración proporciona material orgánica, semillas y mayor actividad enzimática que los suelos procedentes de horizontes más profundos, lo que debería favorecer la descomposición de la hojarasca. En este trabajo, se analiza la importancia del tipo de talud sobre la tasa de descomposición de la hojarasca de cuatro gramíneas y cuatro leguminosas habitualmente empleadas en las hidrosiembras.

Métodos: Se compararon las tasas de descomposición de cuatro gramíneas y cuatro leguminosas a los 3, 6 o 12 meses de su implantación en los taludes, en dos tipos de taludes distintos, terraplenes, con tierra vegetal, o desmontes, sin tierra vegetal. Para aislar el efecto de la tierra vegetal de otros posibles efectos, se realizó un experimento complementario en invernadero por periodos de 2, 4 o 6 meses.

Resultados: Al final de ambos experimentos, el porcentaje de material orgánica remanente (MOR) de las leguminosas fue menor que el de las gramíneas (0,33% y 0,47% respectivamente, en el experimento de campo, y 0,42% y 0,53% en el invernadero), y disminuyó exponencialmente con el tiempo en todos los casos.

El tipo de talud no influyó sobre MOR en el experimento de campo. En el invernadero, MOR fue menor en ausencia de tierra vegetal que con tierra vegetal, aunque estas pequeñas diferencias se debieron probablemente a la aparición de una capa de algas en la superficie de las bandejas con tierra vegetal que sustituyó a la materia orgánica como sustrato en los procesos de descomposición.

Conclusiones: Se concluye que la hojarasca de las leguminosas se descompone más rápidamente que la de las gramíneas, debido a su mayor contenido en N, P y lignina, y a su menor contenido en hemicelulosa y celulosa.

Palabras clave: desmontes, gramíneas, hidrosiembras, leguminosas, lignina, materia orgánica, nitrógeno, restauración, terraplenes.

DOES TOPSOIL ACCELERATE THE DECOMPOSITION OF LITTER ON ROADSLOPES?

Abstract

Background and aims: Topsoil used in restoration projects provides organic matter, seeds and greater microbial activity than soil from deeper horizons, which should accelerate the litter decomposition rate.

Methods: Decomposition rates of four grasses and four legumes were compared after 3, 6 and 12 months of roadslope revegetation on two slope types: embankments with topsoil and roadcuts with no topsoil. To isolate the influence of topsoil presence from other effects, a complementary greenhouse experiment was conducted for periods of 2, 4 and 6 months.

Results: At the end of both experiments, the % of organic matter remaining (OMR) of legumes was lower than that of grasses (0.33% and 0.47% respectively in the field experiment, and 0.42% and 0.53% in the greenhouse). This parameter decreased exponentially with time in all cases.

Roadslope type did not influence the OMR in the field experiment. In the greenhouse experiment, OMR was lower in samples with no topsoil than with topsoil, although these small differences were possibly due to the emergence of algae layer on topsoil trays, replacing litter in the decomposition process.

Conclusions: We conclude that legume litter decomposes more quickly than grass litter due to its higher N, P and lignin content, and its lower hemicellulose and cellulose content.

Key words: embankments; grasses; hydroseeding; legumes; lignin; nitrogen; organic matter; restoration; roadcuts; soil

Introduction

Organic matter enters the soil via litter decomposition, which ultimately determines the primary productivity of terrestrial ecosystems.

Litter decomposition varies with abiotic parameters such as environmental conditions, including moisture (Aerts 1997; Bertiller et al. 2006), precipitation (Epstein et al. 2002; Yahdjian et al. 2006; Austin et al. 2009), temperature (Cortez 1998) and solar radiation (Austin and Vivanco 2006; Day et al. 2007; Henry et al. 2008; Gallo et al. 2009). At the same time, the chemical properties or quality of the leaf litter determines its decomposition (Köchy and Wilson 1997; Cornelissen et al. 1999; Pérez-Harguindeguy et al. 2000; Moretto et al. 2001; Smith and Bradford 2003; Vivanco and Austin 2006; Cortez et al. 2007; Cornwell et al. 2008; Lindedam et al. 2009). To a lesser extent, leaf litter decomposition also depends on soil fauna (Hättenschwiler et al. 2005; Lemons et al. 2005) and microbial communities (Witkamp 1966; Robertson and Paul 2000), which are responsible for the complex interactions between surface organisms and the soil (Wardle et al. 2004). Litter decomposition is thus controlled at three distinct levels, ranked by importance as follows: climate>litter chemical composition>soil fauna (Lavelle et al. 1993).

The complex process of litter decomposition occurs in two stages. The more labile components of the litter, water-soluble compounds, cellulose and non-lignified hemicellulose decompose during the first stage, while the more recalcitrant components (lignified carbohydrates) decompose in the second stage. The chemical composition of litter thus causes slow decomposition when there is a high content in lignin (Cortez et al. 1996; Hamadi et al. 2000; Cornwell et al. 2008), tannin and a high lignin/N ratio (Shaw and Harte 2001), or an acceleration when there is a high C/N ratio (Taylor et al. 1989) or dry matter content of the leaves (Kazakou et al. 2006). A better understanding of the litter chemical composition in species used industrially in processes such as gardening, hydroseeding, reforestation etc. will permit conclusions about their permanence in the systems and their contribution to the nutrient cycle.

The speed of organic matter breakdown regulates biomass accumulation on the ground, which can pose serious environmental, social and economic problems in certain systems. In particularly disturbed, immature and unstable situations such as areas affected by linear infrastructures (Forman and Alexander 1998; Cerdá 2007), nutrient recycling is important as these are nutrient-poor systems (Albaladejo et al. 2000), with no involvement by external agents such as herbivores, which often results in a large accumulation of easily combustible plant biomass near the road or track, with consequences for traveller safety. To reduce the summer fire hazard, some of the accumulated biomass is normally removed (Wilson 1979), which may be costly and often a safety problem for maintenance companies. At the same time, however, the general public prefers maximised integration of the roads into the landscape, leading to the use of hydroseeding on roadslopes for a dual purpose (stability and landscape integration). Hydroseeding usually involves a mixture of legumes, grasses and fertilizers. Its uneven success, especially in Mediterranean environments (Albaladejo et al. 2000; Mola et al. 2011, García-Palacios et al. 2010), has generated considerable scientific and corporate interest in the factors that influence plant cover establishment (Montalvo et al. 2002; Bochet and García-Fayos 2004, Andrés et al. 2006; Matesanz et al. 2006, Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2009).

Two types of slope are used in linear infrastructure, embankments and roadcuts. Embankments are used when the infrastructure alignment is above the natural ground elevation. This process generates steep slopes, the result of the accumulation of inert soil, usually surfacing from a considerable depth. Generally, embankments are revegetated by spreading more fertile soil set aside from the upper 30 cm of the original ground level, known as topsoil. This resource provides seeds, organic matter and more microbial activity than the rest of the soils used in infrastructure, which favours the establishment of plant cover (Holmes 2001; Tormo et al. 2007; Burke 2008; Mola et al. 2011).

Unlike embankments, roadcuts are generated when the grade of the infrastructure is lower than the level of the terrain it passes through, leaving the deeper soil horizons exposed on the surface. Due to heavy soil compaction, these roadworks have steeper

slopes than embankments, which hinders topsoil spreading operations. The most obvious consequence of these engineering differences between embankments and roadcuts are greater vegetation cover on embankments than in roadcuts, in some cases more than 75% (Matesanz et al. 2006), largely due to the inclusion of certain grass and legume species in the hydroseeding mixtures (Andrés et al. 2006; Matesanz et al. 2006; Tormo et al. 2008).

Our hypothesis is that in the absence of pressure by large herbivores, local-scale leaf litter decomposition of hydroseeded species is primarily determined by the type of slope and the presence or absence of topsoil, as well as the chemical composition of the litter.

To test this hypothesis, we conducted two experiments, one in the field and the other under controlled greenhouse conditions. The goals of the first experiment were: 1) to analyse the importance of the type of roadslope in the litter decomposition rate of four grasses and four legumes commonly used in hydroseeding and 2) to predict the decomposition rate on the basis of the litter chemical composition. The second experiment attempted to isolate the precise effect of the presence of topsoil on the decomposition rate of these species.

The results of these experiments may also permit recommendations to be made for the choice of hydroseeding mixtures and hence the reduction of the fire safety hazard in this infrastructure and its maintenance costs.

Material and methods

Study site

The field experiment was carried out on roadslopes along the A-1 motorway near El Molar, Madrid, central Spain (40 ° 44 '24"N - 3 ° 34' 54"W) at an altitude of 820 m a.s.l. This motorway was built in 2008-2009 on quartzite, slate, clay and sandy soils. The vegetation around the infrastructure is a mosaic of abandoned cropland and therophytic grasslands, with some remnants of open woodlands containing *Quercus ilex* subs

ballota. The area has a characteristic continental Mediterranean climate with 540 mm mean rainfall and 13.2° C mean annual temperature.

Selected species and litter sampling

We used aerial litter from eight species selected from two major functional groups (legumes and grasses): legumes *Medicago sativa* Scop., *Melilotus albus* L., *Onobrychis viciifolia* Medik. and *Vicia sativa* L., and grasses *Piptatherum miliaceum* (L.) Coss., *Lolium rigidum* Gaudin, *Lolium multiflorum* Lam., *Dactylis glomerata* L., all chosen due to their common use in roadslope restoration in Mediterranean Iberia. In 2008, the species were hydroseeded on the slopes of the A-1 motorway, with a heterogeneous cover achieved in 2009.

In summer 2009, mixed leaf and stem samples of the standing senescent litter from each species were gathered on the highway slopes and placed in bags. The samples were air dried and cut into 5 cm-long pieces to simulate wind degradation.

Handmade 9 x 7 cm litterbags consisted of 1 mm ø polyethylene mesh were filled with 1 g of air-dried litter. Although the mesh size hindered invertebrate fauna contribution to the decomposition process, this was a minor aspect in comparison with that of bacteria, protozoa and fungi (Cornelissen 1996).

Mixed species litterbags were included in the experiment to detect whether the decomposition of individual species differed from the species mixture, which resemble the real field situation. For this purpose, 1 g of air-dried litter with an equiproportional mixture of the eight species was placed in litterbags.

The stem/leaf ratio of each species in the litterbags was estimated using the average dry weight of stems in ten 1 g samples of each species to ensure that there were no differences between species in this parameter.

Experimental design

Two experiments were carried out to assess the effect of topsoil addition on decomposition of the selected grasses and legumes. A field experiment was conducted

to simulate natural processes in roadcuts (without topsoil addition) and embankments (with topsoil addition). A supplementary greenhouse experiment was conducted to isolate the effect from others such as construction process and plant cover:

Experiment A (field experiment):

Four roadcuts and four embankments were selected for the experiment, with homogeneous orientation (east), height and age, but differing in construction methods and subsequent addition of stockpiled topsoil. Roadcuts were built removing soil at different depths, generating a compacted slope whose surface consisted of the deeper soil profiles, whereas the embankment slopes were the result of superimposing different soil layers. Prior to the commencement of the roadworks, a 30 cm layer of topsoil was removed from the route and stockpiled for approximately one year. A 30 cm deep layer of topsoil was later applied to the slope surface when the embankment construction works had concluded. This was not done in the case of the roadcuts.

In November 2009, six litter samples per species were staked to the ground on each of the eight slopes, and then collected for lab tests after 76, 194 and 376 days (3, 6 and 12 months). Six mixture litterbags were staked on each slope and collected in the same periods and number as the other litterbags. Litterbags were randomly staked to the roadcuts and embankments with stainless steel nails to ensure litter contact with soil. Two extra litterbags of each species were used to estimate mass loss from handling. These extra litterbags were anchored to the slopes at the start of the experiment and immediately taken to the laboratory for dry mass analysis.

Experiment B (tray experiment):

Soil samples collected in the same roadcuts and embankments as experiment A were used to fill plastic trays (40 x 20 x 5 cm size) in a nearby greenhouse. Embankment trays were filled with topsoil whereas trays from roadcuts were filled with the deeper soil profiles exposed on the roadcut surface (no topsoil).

Substrate moisture was maintained in all trays by irrigation with 2 l of tap water every two weeks, approximately, previously calculated as the mean volume required for 80% water saturation of all trays.

Litter samples (individual species and mixture) were placed on 30 trays in December 2009, 15 with topsoil and 15 without topsoil. Every two months, ten litterbags per species and ten mixture litterbags were carefully removed from the trays for lab tests of litter mass loss, five from topsoil trays and five from non-topsoil trays.

Mass loss and decomposition rate

Mass loss of each species was determined by drying them at 70°C for 48 h and measuring mass loss on ignition at 550°C for 4h (ash free dry mass). Percentage of remaining organic matter at time t was calculated as the fraction x_t/x_o , where x_o is the initial dry litter mass minus the dry mass lost by manipulation, x_t is the residual dry litter mass at time t .

To estimate the decomposition rate (K), we fitted data for litter ash-free dry-mass remaining to a negative exponential model (Olson 1963): $x_t/x_o = e^{-kt}$, where x_o is the initial dry litter mass minus the dry mass lost by manipulation, x_t is the residual dry litter mass at time t , and k is the daily decay constant expressed in day^{-1} . We performed the regressions of $\ln(x_t/x_o)$ over time separately for each set of litterbags in each plot to generate independent estimates of k in the various decomposition environments.

Litter chemical composition

Elemental analysis (C, H, N, P and fibre content) was performed for initial litter samples. Litter C, H and N were determined by the full combustion of samples following Pregl and Dumas technique. Total phosphorus was determined with Inductive Coupled Plasma-Mass Spectrometry (Zuluaga et al. 2011). Finally, fibre was determined with the ANKOM Filter Bag Technique (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY) and the procedures described by Vogel et al. (1999). This method determines Neutral Detergent Fibre and Acid Detergent Fibre, which is the residue remaining after digestion in a detergent solution or H_2SO_4 and CTAB, respectively.

Acid Detergent Lignin was determined in an ANKOM Daisy Incubator (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY).

Roadslope characterization

Roadslope productivity was estimated via its standing biomass production. In August 2010, five biomass samples were gathered from 0.5 x 0.5 m areas on each slope, forced-air oven dried at 70°C for 48 h and weighed.

Samples of 1 kg of soil were also randomly collected on each of the experimental roadslopes to test their physical-chemical properties. They were dried, ground, passed through a 2-mm sieve and analysed for organic matter (Walkley and Black 1934), total nitrogen (Kjeldahl), exchangeable phosphorous and potassium (extraction by acetate-EDTA: Läkanen and Enviö 1971; Cottenie et al. 1975; measured by spectrophotometer except for phosphorus (colorimeter)), sand, silt and clay percentages (Day 1965) and readily available water (amount of water between “field capacity” and “wilting point”). Water content in soil was analysed by gravimetric techniques (Richards 1954). Soil pH was also measured in the 1:2.5 soil/water dilution.

Data analysis

Litter chemical composition data were analysed by Redundancy Analysis (RDA) using CANOCO 4.5 (Jongman et al. 1987; ter Braak 1990; ter Braak and Prentice 1988) and graphics by CANODRAW (Smilauer 1993). RDA is analogous to multiple regression when the response variable is multivariant. Family was used as an independent dummy variable. RDA was used because gradients (DCA length of gradient = 0.57) were short (Jongman et al. 1987). Chemical data were log transformed. The significance of the result was tested using the Monte Carlo test (499 permutations) for the first canonical axis.

A one-way ANOVA was used to compare the standing plant biomass remaining in roadcuts and embankments in summer.

One-way ANOVA tests were performed to test for roadslope type effect on soil parameters.

Three-factor ANOVAs were used to analyse mass loss in experiments A and B.

In experiment A, factors introduced into the model were slope type (roadcut and embankment), family (grasses, legumes, mixed) and time (3 levels), while in experiment B, topsoil (presence, absence), family and time. Percentage of remaining organic matter was log transformed to fulfil normality assumptions. Interactions amongst the factors were introduced into the model, and when non-significant, they were excluded.

A regression analysis was used to find the best explanatory model of species decomposition rates (k), with chemical litter parameters and stem/leaf ratio as independent variables. In order to control for the influence of environmental characteristics on the slope, we used mean values of standing biomass for each slope as an independent variable in the decomposition rate model.

Results

Litter chemical composition

RDA analysis showed that family had a significant effect on litter chemical composition (Permutation test $F = 25.65$, $P < 0.01$). Family explained 30.7% of the total variability of the litter chemical composition. Grasses and legumes were clearly separated in the multidimensional space, and the mixture occupied an intermediate position (Figure 1). Legume litter had a high percentage of nitrogen and lignin while grasses had a high percentage of hemicellulose.

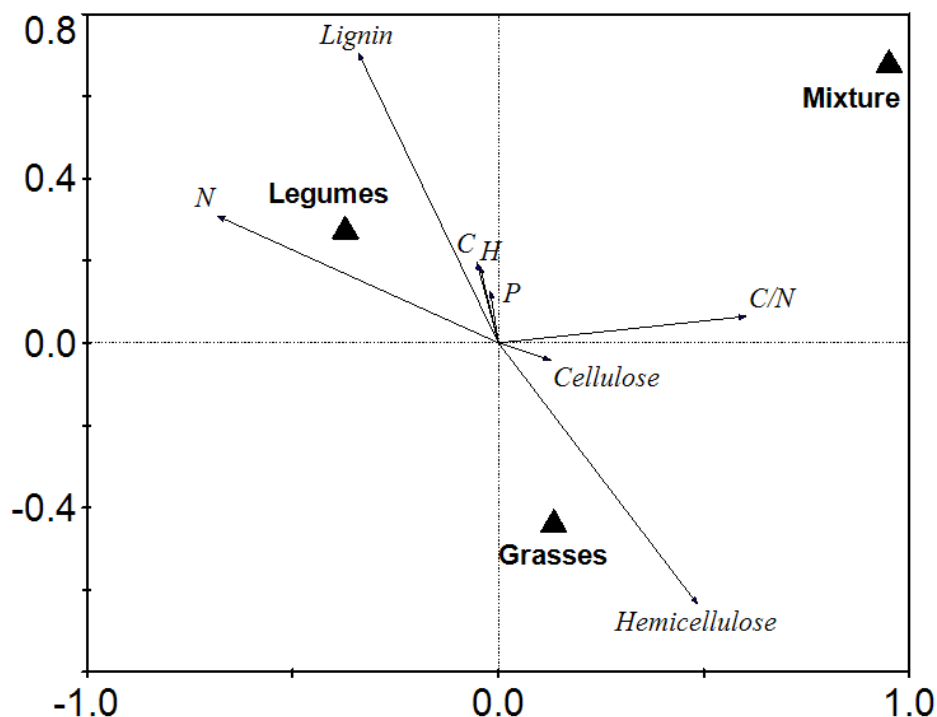


Figure 1: Ordination diagram for redundancy analysis (RDA). Solid lines are the litter chemical parameters and symbols are the different families (legumes, grasses and a mixture of them). The relative chemical composition of legumes, grasses and mixture can be determined from the relation between the position of the families and the chemical parameter arrows.

Roadslope characterization

Significant differences were found between roadcuts and embankments in standing plant biomass, with a significant higher plant biomass on embankments ($19,516 \pm 3,991.6$ kg DM/ha, mean \pm ES) than in roadcuts ($2,499 \pm 600.2$ kg DM/ha, $F = 17.78$, $P < 0.001$).

Significant differences were also found between roadcuts and embankments in organic matter, nitrogen and silt content, with higher values on embankments than in roadcuts (Table 1). We did not find significant differences between the two types of roadslopes for the rest of the analysed soil parameters (Table 1).

Table 1: F and p-values of the ANOVAs of the soil parameters in relation to Roadslope type. Mean \pm SE are indicated for Embankments and Roadcuts. Significant p-values are in bold. The units used to calculate the soil parameters were g/kg dry soil, except for phosphorous and potassium in the case of mg/100 g dry soil.

Soil parameter	Embankments	Roadcuts	F	P
Organic Mater (%)	1.21 \pm 0.06	0.12 \pm 0.06	182.25	<0.001
N (%)	0.08 \pm 0.02	0.003 \pm 0.00	20.32	<0.01
P (ppm)	8.75 \pm 1.38	17.25 \pm 6.42	1.67	0.24
K (ppm)	81.25 \pm 7.63	138.50 \pm 41.35	1.85	0.22
pH	7.47 \pm 0.33	7.22 \pm 0.33	0.29	0.61
Sand (%)	66.93 \pm 1.34	68.05 \pm 2.33	2.48	0.17
Silt (%)	11.54 \pm 1.57	0.55 \pm 17.98	7.92	0.03
Clay (%)	21.52 \pm 2.72	15.71 \pm 2.49	0.17	0.69
Readily available water (%)	5.02 \pm 0.44	4.67 \pm 0.24	0.47	0.52

Experiment A (field experiment)

The ANOVA of the percentatge of remaining organic matter showed a significant effect of family, with legumes showing lower values of this parameter than grasses, and mixed litter showing intermediate values (Figure 2, Table 2). The effect of time was significant in all cases ($p < 0.001$), with an exponential decrease in % of remaining organic matter over time (Table 2, Figure 2). The effect of roadslope type on the % of remaining organic matter was not significant (Table 2).

In this experiment, *Melilotus albus* litter lost more weight than the other species, and *Piptatherum miliaceum* showed the lowest mass reduction (Table 3).

Table 2: ANOVA of mass remaining as dependent variable and Family, Time and Roadslope type (experiment A) or Topsoil presence (experiment B) as factors. Freedom degrees (f.d.), and p-values are also included. * Letters a, b and c, identify differences between levels of factor according to Bonferroni test.

Experiment	Explanatory variables	Levels	X ² de Wald	Mean	ES	f.d.	P*
Experiment A (Field experiment)	Intercept		6713.29			1	>0.001
	Family		353.40			2	>0.001
		Grasses		0.582	0.0065		a
		Legumes		0.411	0.0065		c
		Mixture		0.454	0.0129		b
	Roadslope		2.44			1	0.119
		Roadcut		0.489	0.0068		
		Embankment		0.476	0.0069		
	Time		358.11			2	>0.001
		76 days		0.584	0.0080		a
		194 days		0.480	0.0080		b
		376 days		0.382	0.0083		c
Experiment B (Tray experiment)	Intercept		5048.69			1	>0.001
	Family		60.37			2	>0.001
		Grasses		0.664	0.0081		a
		Legumes		0.717	0.0079		b
		Mixture		0.701	0.0161		b
	Topsoil		15.09			1	0.010
		Absence		0.582	0.0084		
		Presencet		0.627	0.0085		
	Time		287.15			2	>0.001
		62 days		0.704	0.0102		a
		123 days		0.647	0.0100		b
		181 days		0.461	0.0099		c
	Topsoil* Time		9.47			2	0.009

Table 3: Species percentage of organic matter remaining after 76, 194 or 376 days in the Experiment A (field) (mean \pm SE).

Species	76 days	194 days	376 days
<i>Dactylis glomerata</i>	0.666 \pm 0.0082	0.563 \pm 0.0160	0.415 \pm 0.0131
<i>Lolium multiflorum</i>	0.603 \pm 0.0082	0.499 \pm 0.0101	0.417 \pm 0.0116
<i>Lolium rigidum</i>	0.676 \pm 0.0104	0.573 \pm 0.0076	0.467 \pm 0.0128
<i>Medicago sativa</i>	0.501 \pm 0.0101	0.407 \pm 0.0131	0.365 \pm 0.0147
<i>Melilotus albus</i>	0.387 \pm 0.0206	0.259 \pm 0.0266	0.178 \pm 0.0166
<i>Onobrychis viciifolia</i>	0.533 \pm 0.0139	0.452 \pm 0.0116	0.354 \pm 0.0133
<i>Piptatherum miliaceum</i>	0.788 \pm 0.0108	0.708 \pm 0.0105	0.585 \pm 0.0161
<i>Vicia sativa</i>	0.609 \pm 0.0101	0.477 \pm 0.0085	0.381 \pm 0.0122
Mixture	0.581 \pm 0.0089	0.461 \pm 0.0105	0.318 \pm 0.0186

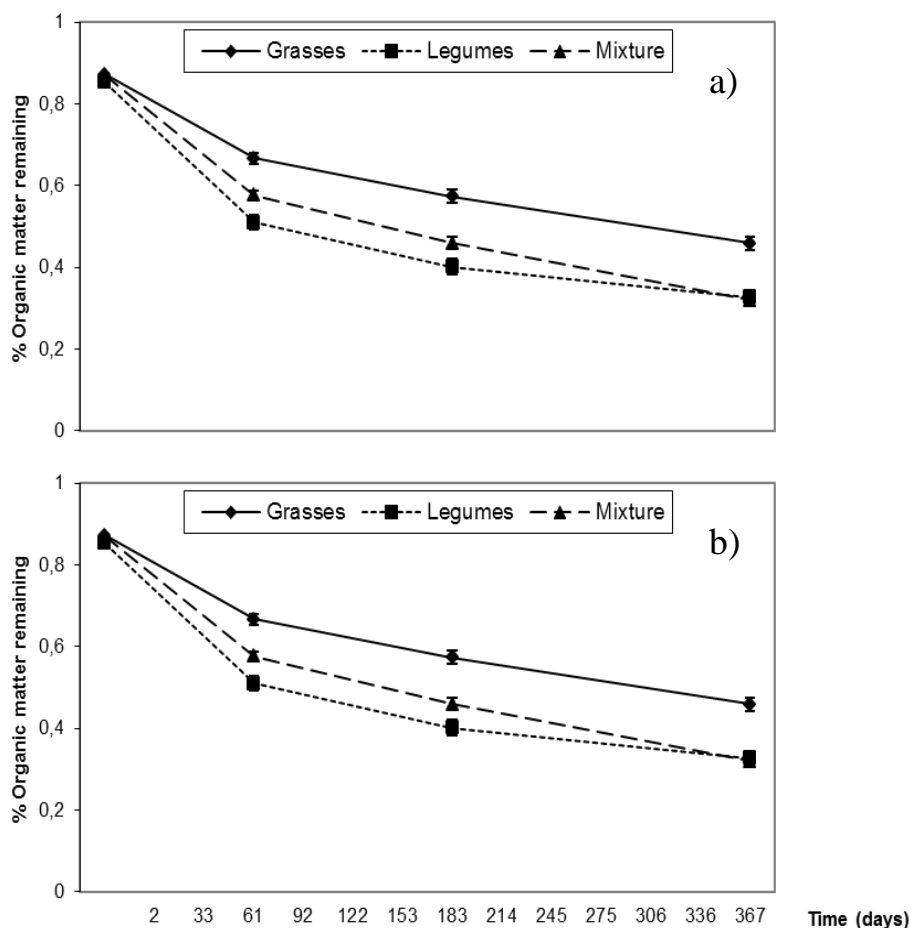


Figure 2: Percentage (mean \pm SE) of organic matter of grasses, legumes and mixture of grasses and legumes that remained unaltered after 76, 194 or 376 days in the **Experiment A** (field experiment) both in roadcuts (a) and embankment (b). Initial date was 11 November 2009.

Experiment B (tray experiment)

The ANOVA of the % of remaining organic matter showed a significant effect of family, with legumes and mixed samples showing lower values of this parameter than grasses (Figure 3, Table 2). As in experiment A, % of organic matter showed an exponential decrease over time in all cases. In this case, the effect of roadslope type on the % of remaining organic matter was significant (Table 2), with more % of remaining organic matter in trays with topsoil (embankments), although these differences were very small (0.52 ± 0.088 (mean \pm SE) and 0.42 ± 0.140 for embankments and roadcuts, respectively) at the end of the experiment.

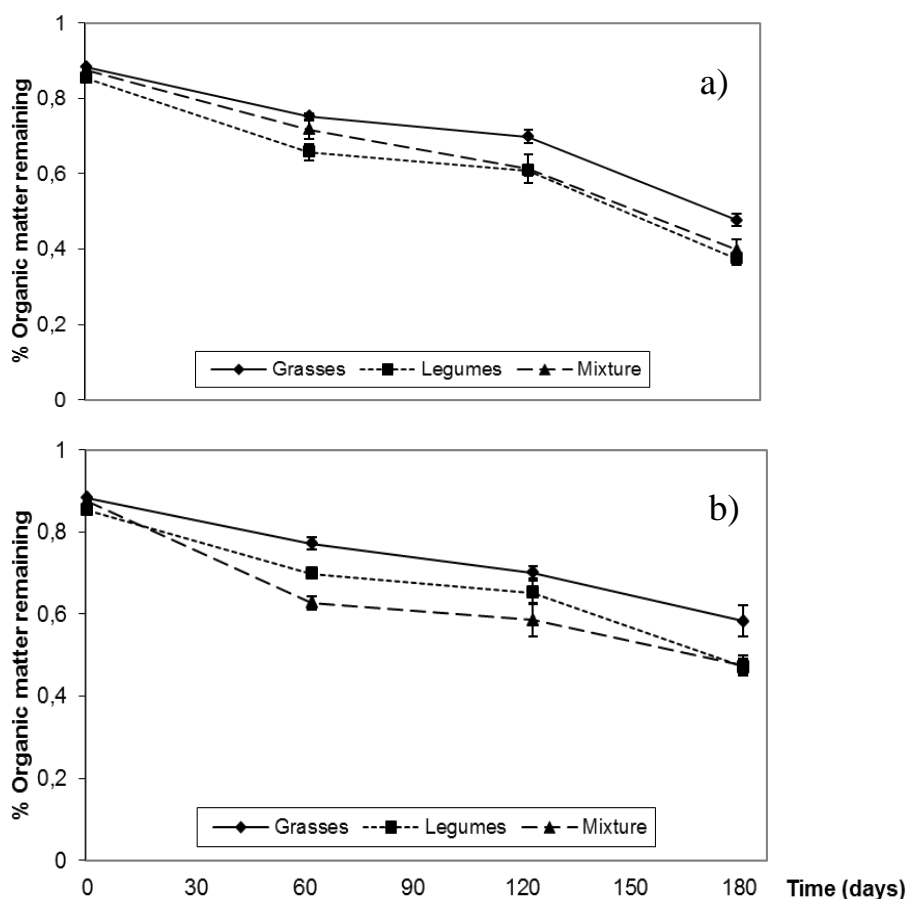


Figure 3: Percentage (mean \pm SE) of organic matter of grasses, legumes and mixture of grasses and legumes that remained unaltered after 62, 123 or 181 days in the **Experiment B** (trays) both with no topsoil (a) and with topsoil (b). Initial date was 18 December 2009.

Decomposition rate vs. litter chemical composition

The best model for species decomposition rate includes various litter chemical composition parameters ($R^2 = 0.492$, Table 4). Percentages of nitrogen ($\beta = +0.0004$), hemicellulose ($\beta = +0.0002$) and lignin ($\beta = +0.0006$) were positively related to species decomposition rate, whereas percentages of carbon ($\beta = -0.0004$) and cellulose ($\beta = -0.0002$) were negatively related to species decomposition rate. Neither %H, stem/leaf ratio nor standing biomass of the slope were significant. Total P in the litter showed a slight tendency (Table 4) to be positively related to species decomposition rate.

Table 4: Summary of Regression Model for the decomposition rate and chemical parameters (% nitrogen, hemicellulose, lignin, carbon and cellulose, and total P) in the field experiment. Percentage of biomass, stems/leaves ratio and %H were not included in the final model.

Response variable	Explanatory variables	Mean	F	f.d.	P
Decomposition rate (<i>k</i>)	% N	1.51E-06	4.21	1	0.044
	% Hemicellulose	1.44E-05	40.06	1	>0.001
	% Lignin	1.15E-05	32.08	1	>0.001
	P total	9.03E-07	2.51	1	0.118
	% C	7.06E-06	19.66	1	>0.001
	% Cellulose	6.72E-06	18.71	1	>0.001

Discussion

In these results, topsoil does not seem to significantly affect the decomposition of species commonly used for hydroseeding in the restoration of Mediterranean ecosystems in either the field or in the greenhouse experiment. Despite the differences in organic matter, total nitrogen and silt content of soils with and without topsoil, they are not manifested in litter weight loss, underscoring the primary role of climate in litter decomposition mentioned by many authors (Aerts 1997; Epstein et al. 2002; Bertiller et al. 2006; Day et al. 2007; Yahdjian et al. 2006; Henry et al. 2008; Gallo et al. 2009).

Previous work has shown that topsoil provides nutrients (Jobbágy and Jackson 2001) and greater microbial activity than soil from deeper layers (Federle et al. 1986; Blume et al. 2002; Fierer et al. 2003). It also encourages nutrient recycling through the soil food

web (Wardle et al. 2004) and hence the formation of plant cover, as observed in a wide range of environments such as quarrying, mining and roadslopes (Holmes 2001; Tormo et al. 2007; Burke 2008; Mola et al. 2011). Topsoil application may thus be expected to stimulate litter decomposition on nutrient-poor substrates such as those exposed during road construction. Nevertheless, in the field experiment, litter decomposition was similar in both types of roadslopes, roadcuts (no topsoil addition) and embankments (with topsoil addition), regardless of the higher values of organic matter, total N and silt content. Roadcuts and embankments also differed in vegetation cover, which was higher in the latter. The greenhouse experiment was conducted to isolate the direct effect of topsoil addition from the indirect effects linked to the differences in vegetation cover between embankments and roadcuts. The results of this second experiment did not show the expected facilitative effect of topsoil on litter decomposition. In this case, contrary to our hypothesis, there was more litter decomposition in the absence than in the presence of topsoil, although this difference was only 0.1%. These differences between treatments only appeared in the final period of the experiment, coinciding with higher daily temperatures and therefore with periods of increased microbial activity. One possible explanation could be related to the appearance of a superficial layer of algae in the topsoil-bearing trays, probably due to the higher water retention of the topsoil in comparison with mineral soils. All trays received the same amount of irrigation water during the experiment, however the greater content in organic matter and silt in the topsoil-bearing trays probably resulted in greater water retention (Hudson 1994). We suggest that the more easily degradable algae exudates probably replaced the role of plant litter as substrate in the decomposition process, thus reducing the effect of microorganisms on plant litter in the presence algae in the soil surface under these unusual wet and hot conditions for Mediterranean roadslopes.

In the present case, differences in soil organic matter between embankments and roadcuts (1.21 ± 0.06 and 0.12 ± 0.06 , respectively) were similar to those recorded by Mola et al. (2011) in Madrid (0.148 ± 0.023 in embankments and 0.007 ± 0.006 in roadcuts) and Bochet et al. (2010) in Valencia (1.33 ± 0.19 in embankments and 0.75 ± 0.06 in roadcuts). Values for embankment organic matter are characteristic of

semiarid and Mediterranean agricultural areas and abandoned croplands in Spain (Romanyà et al. 2007). According to Loveland and Webb (2003), 2% organic carbon is the lowest threshold value to ensure soil quality and structural stability (Greenland et al. 1975). The poor quality of the analysed soils is probably due to their source, abandoned cropland, but also to their dilution within the 30 cm deep soils used for topsoil stockpiling during construction work.

Another goal of this research was to clarify which species amongst those used in the hydroseeding mixtures accumulate more biomass on roadslopes, i.e., which species require more mowing. The results confirm those found by other authors, identifying the physical and chemical properties of litter as a major determinant of decomposition (Aerts et al. 2003).

Legumes and grasses differ in their chemical composition, and hence the rate of leaf litter decomposition. Legumes have a high lignin and nitrogen content, which favours their integration with the soil. Grasses have a higher hemicellulose content and hence a slow decay (Koukoura et al. 2003; Lindedam et al. 2009).

It is generally assumed that lignin, cellulose and hemicellulose, as well as the C:N ratio of litter, are some of the most crucial variables of litter decomposition, especially in the early stages of succession (Kazakou et al. 2006; Cortez et al. 2007), which confirms our results. Compounds such as the P content in litter are also important, which makes sense in environments where their scarcity makes this element a limiting factor for biological activity (Aerts 1997). Authors such as Aerts (1997) suggest that in tropical regions, P may control decomposition in the early stages. These results could not be contrasted in our experiment as the relationship between this parameter and the rate of litter decomposition was not significant.

Conclusions

Litter decomposition on slopes in Mediterranean environments is primarily controlled by environmental conditions and its initial physical-chemical properties. The effect of the presence of topsoil seems not to influence litter decomposition, probably due to the low quality of the topsoil used in roadslope restoration, where current construction practices cause topsoil dilution as well as reduced organic matter content and presumably other associated soil properties such as water retention and microbial activity.

Furthermore, legumes are the fastest disappearing species on the slopes, making it advisable to include a higher proportion of these species in hydroseeding mixtures, as they aid soil enrichment via N fixing and also integrate with the soil more readily, facilitating nutrient recycling and reducing the hazards associated with excessive accumulation of dry biomass on roadslopes.

Acknowledgements

This paper is a description of work by the Obrascón Huarte Lain S.A. Corporation (OHL) in collaboration with the Ecology Department of the Autónoma University of Madrid. It is part of a broader industrial research project, CENIT-OASIS (Safe, Intelligent and Sustainable Highway Operation), approved under CENIT tender 2008-2011. Grants have been received from the Ministry of Science and Innovation's Centre for Industrial and Technology Development (CDTI). The results presented in this paper are the property of the consortium promoting the project (OHL-Concesiones, IRIDIUM, ABERTIS, OHL, DRAGADOS, GEOCISA, GMV, ASFALTOS AUGUSTA, HIDROFERSA, EIPSA, PyG, CPS, AEC and TORRE DE COMARES). The project is jointly funded by Madrid Regional Government grants for research groups, REMEDINAL 2 S-2009/AMB/783, project GLO 2007-633827-BOS from the Ministry of Education and Science, and assistance by Torres Quevedo (PTQ-09-01-00728) for

the employment of Dr. Berta Martínez Jáuregui by the corporation, under the auspices of the Ministry of Science and Innovation. We finally thank Carlos Pérez for his statistical assistance.

References

Aerts, R. 1997. Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *OIKOS*, 79, 439-449.

Aerts, R., de Caluwe, H., Beltman, B. 2003. Plant community mediated vs. nutritional controls on litter decomposition rates in grasslands. *Ecology*, 84, 3198-3208.

Albaladejo, J., Alvarez J., Querejeta, J., Díaz, E., Castillo, V. 2000. Three hydro-seeding revegetation techniques for soil erosion control on anthropic steep slopes. *Land Degradation & Development*, 11, 315-325.

Andrés, P., Zapater V., Pamplona, M. 2006. Stabilization of motorway slopes with herbaceous cover, Catalonia, Spain *Restoration Ecology*, 4, 51-60.

Austin A.T., Araujo P.I., Leva, P.E. 2009. Interaction of position, litter type, and water pulses on decomposition of grasses from the semiarid Patagonian steppe. *Ecology*, 90, 2642-2647.

Austin, A.T., Vivanco, L. 2006. Plant litter decomposition in a semi-arid ecosystem controlled by photodegradation. *Nature*, 442, 555-558.

Bertiller, M.B., Mazzarino. M.J., Carrera, A.L, Diehl P., Satti, P., Gobbi, M., Sain, C.L. 2006. Leaf strategies and soil N across a regional humidity gradient in Patagonia. *Oecologia*, 148, 612-624.

Blume, E., Bischoff, M., Reichert, J.M., Moorman, T., Konopka A., Turco, R.F. 2002. Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. *Applied Soil Ecology*, 20, 171-181.

- Bochet, E., García-Fayos, P. 2004. Factors controlling vegetation establishment and water erosion on motorway slopes in Valencia, Spain. *Restoration Ecology*, 12, 166-174.
- Bochet, E., Tormo J., García-Fayos, P. 2009. Native species for roadslope revegetation: Selection, validation, and cost effectiveness. *Restoration Ecology*, 1-8.
- Bochet, J., Tormo, J., García-Fayos, P. 2010. How can we control erosion of roadslopes in semiarid Mediterranean areas? Soil improvement and native establishment. *Land Degradation & Development*, 21, 110-121.
- Burke, A. 2008. The effect of topsoil treatment on the recovery of rocky plain and outcrop plant communities in Namibia. *Journal of Arid Environment*, 72, 1531-1536.
- Cerdá, A. 2007. Soil water erosion on road embankments in eastern Spain. *Science of the Total Environment*, 378, 151-155.
- Cornelissen, J.H.C., Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Grime, J.P., Marzano, B., Cabido, M., Vendramini, F., Cerabolini, B. 1999. Leaf structure and defence control litter decomposition rate across species and life forms in regional floras on two continents. *New Phytologist*, 143, 191-200.
- Cornwell, W.K., Cornelissen, H.C., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V.T., Godoy, O., Hobbie, S.E., Hoorens, B., Kurokawa, H., Pérez-Harguindeguy, N., Quested, H.M., Santiago, L.S., Wardle, D.A., Wright, I.J., Aerts, R., Allison, S.D., Van Bondegom, P., Brovkin, V., Chatain, A., Callaghan, T.V., Díaz, S., Garnier, E., Gurvich, D.E., Kazakou, E., Klein, J.A., Read, J., Reich, P.B., Soudzilovskaia, N.A., Vaieretti M.V., Westoby, M. 2008. Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology Letters*, 11, 1065-1071.
- Cortez, J. 1998. Field composition of leaf litters: relationships between decomposition rates and soil moisture, soil temperature and earthworm activity. *Soil Biology Biochemistry*, 30, 783-393.

- Cortez, J., Demard, J.M., Bottner, P., Jocteur Monrozier, L. 1996. Decomposition of Mediterranean leaf litters: a microcosm experiment investigating relationships between decomposition rates and litter quality. *Soil Biology Biochemistry*, 28, 443-452.
- Cortez, J., Garnier, E., Pérez-Harguindeguy, N., Debussche, M., Gillon, D. 2007. Plant traits, litter quality and decomposition in a Mediterranean old-field succession. *Plant and Soil*, 296, 19-34.
- Cottenie, A., Kiekens, L., Verloo, M. 1975. Principles of soils and substrate analysis with regards to mobility of nutrient elements. *Pedologie*, 25, 134-142.
- Day, T.A., Zhang, E.T., Ruhland, C.T. 2007. Exposure to solar UV-B radiation accelerates mass and lignin loss of *Larrea tridentate* litter in the Sonoran Desert. *Plant Ecology*, 193, 185-194.
- Day, P.R. 1965. Particle fractionation and particle-size analysis. In Page, A.L. (Ed.). *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA. pp. 545-567.
- Epstein, H.E., Burke, I.C., Lauenroth, W.K. 2002. Regional patterns of decomposition and primary production rates in the U.S. Great Plains. *Ecology*, 83, 320-327.
- Federle, T., Dobbins, D., Thornton-Manning, J., Jones, D. 1986. Microbial biomass, activity, and community structure in subsurface soils. *Ground Water*, 24, 365-374.
- Fierer, N., Schimel, J.P., Holden, P.A. 2003. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology Biochemistry*, 35, 167-176.
- Forman, R.T.T., Alexander, L.E. 1998. Roads and their major ecological effects. *Annual of Ecology and Systematics*, 8, 629-644.
- Gallo, M.E., Porras-Alfaro, A., Odenbach, K.J., Sinsabaugh, R.L. 2009. Photoacceleration of plant litter decomposition in an arid environment. *Soil Biology Biochemistry*, 41, 1433-1441.

García-Palacios, P., Soliveres, S., Maestre, F.T., Escudero, A., Castillo-Monroy, A.P., Valladares, F. 2010. Dominant plant species modulate responses to hydroseeding, irrigation and fertilization during the restoration of semiarid motorway slopes. *Ecological Engineering*, 36, 1290-1298.

Greenland, D.J., Rimmer, D., Payne, D. 1975. Determination of structural stability class of English and Welsh soils, using a water coherence test. *Journal of Soil Science*, 26, 294-303.

Hamadi, Z., Steinberger, Y., Kutiel, P., Lavee, H., Barness, G. 2000. Decomposition of *Avena sterilis* litter under arid conditions. *Journal of Arid Environments*, 46, 281-293.

Hätternschwiler, S., Tiunov, A.V., Scheu, S. 2005. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 191-218.

Henry, H.A.L., Brizgys, K., Field, C.B. 2008. Litter decomposition in a California annual grassland: interactions between photodegradation and litter layer thickness. *Ecosystems*, 11, 545-554.

Holmes, P.M. 2001. Shrubland restoration following alien invasion and mining: effects of topsoil depth, seed source and fertilizer addition. *Restoration Ecology*, 9, 71-84.

Hudson, B.D. 1994. Soil organic matter and available water capacity. *Journal of Soil and Water Conservation*, 49 (2), 189-189.

Jobbágy, E.G., Jackson, R.B. 2001. The distribution of soil nutrients with depth: Global patterns and the imprint of plants. *Biogeochemistry*, 53, 51-77.

Jongman, R.H.G., Ter Braak, C.J.F., Van Tongeren O.F.R. 1987. *Data analysis in community and landscape ecology*. Wageningen, Pudoc.

Kazakou, E., Vile, D., Shipley, B., Gallet, C., Garnier, E. 2006. Co-variations in litter decomposition in species from a Mediterranean old-field succession. *Functional Ecology*, 20, 21-30.

- Köchy, M., Wilson, S.D. 1997. Litter decomposition and nitrogen dynamics in Aspen forest and mixed-grass prairie. *Ecology*, 78, 732-739.
- Koukoura, Z., Mamolos, A.P., Kalburtji, K.L. 2003. Decomposition of dominant plant species litter in semi-arid grassland. *Applied Soil Ecology*, 23, 13-23.
- Läkanen, E., Enviö, R. 1971. A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soils. *Acta Agraria Fennica*, 123, 223-232.
- Lavelle, P., Blanchart, E., Martin, A., Martin, S., Spain, A. 1993. A hierarchical model for decomposition in terrestrial ecosystems: application to soils of the humid tropics. *Biotropica*, 25, 130-150.
- Lemons, A., Clay, K., Rudgers, J.A. 2005. Connecting plant-microbial interactions above endophyte affects decomposition. *Oecologia*, 145, 595-604.
- Lindedam, J., Magid, J., Poulsen P., Luxhøi, J. 2009. Tissue architecture and soil fertility controls on decomposer communities and decomposition of roots. *Soil Biology Biochemistry*, 41, 1040-1049.
- Loveland, P., Webb, J. 2003. Is there a critical level of organic matter in the agricultural soils of temperate regions: a review. *Soil & Tillage Research*, 70, 1-18.
- Matesanz, S., Valladares, F.J., Tena, D., Costa-Tenorio, M., Bote, D. 2006. Early dynamics of plant communities on revegetated motorway slopes from southern Spain: Is hydroseeding always needed? *Restoration Ecology*, 14, 297-307.
- Mola, I., Jiménez, M.D., López-Jiménez, N., Casado, M.A. Balaguer, L. 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: Management options under Schedule pressure. *Restoration Ecology*, 19 (1), 83-92.
- Montalvo, A.M., McMillan, P.A., Allen, E.B. 2002. The relative importance of seeding method, soil ripping, and soil variables on seeding success. *Restoration Ecology*, 10, 52-67.

- Moretto, A.S., Distel, R.A., Didoné, N.G. 2001. Decomposition and nutrient dynamic of leaf litter and roots from palatable and unpalatable grasses in a semi-arid grassland. *Applied Soil Ecology*, 18, 31-37.
- Olson, J.S. 1963. Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology*, 44, 322-331.
- Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Cornelissen, J.H.C., Vendramini, F., Cabido, M., Castellanos, A. 2000. Chemistry and toughness predict leaf litter decomposition rates over a wide spectrum of functional types and taxa in central Argentina. *Plant and Soil*, 218, 21-30.
- Richards, L.A. 1954 *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. USDA US Govt. Printing Office, Washington, DC, USA. pp. 109-110.
- Robertson, G.P., Paul, E.A. 2000 Decomposition and soil organic matter dynamics. In: Osvaldo, E.S., Jackson, R.B., Mooney, H.A., Howart, R. (Eds). *Methods in Ecosystem Science*. Springer Verlag, NY, USA. pp. 104-116
- Romanyà, J., Rovira, P., Vallejo, R. 2007. Análisis del carbono en los suelos agrícolas de España. Aspectos relevantes en relación a la reconversión a la agricultura ecológica en el ámbito mediterráneo. *Ecosistemas*, 16 (1), 50-57.
- Shaw, M.R., Harte, J. 2001. Control of litter decomposition in a subalpine meadow-sagebrush steppe ecotone under climate change. *Ecological Applications*, 11, 1206-1223.
- Smilauer, P. 1993. *CanoDraw 3.0*. Environmental Change Research Centre, University College, London
- Smith, V.C., Bradford, M.A. 2003. Litter quality impacts on grassland litter decomposition are differently dependent on soil fauna across time. *Applied Soil Ecology*, 14: 197-203.

- Taylor, B.R., Parkinson, D., Parsons, W.F. 1989. Nitrogen and lignin content as predictors of litter decay rates: a microcosms test. *Ecology*, 70, 97-104.
- Ter Braak, C.J.F. 1990. CANOCO – a FORTRAN program for CANOnical Community Ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis, principal components analysis and redundancy analysis (versión 3.10). Microcomputer Power, Ithaca.
- Ter Braak, C.J.F., Prentice, I.C. 1988. A theory of gradient analysis. *Advances in Ecological Research*, 18, 271-317.
- Tormo, J., Bochet, E., García-Fayós, P. 2007. Roadfill revegetation in semiarid Mediterranean environments. part II: Topsoiling, species selection, and hydroseeding. *Restoration Ecology*, 15, 97-102.
- Tormo, J., García-Fayos, P., Bochet, E. 2008. Relative importance of plant traits and ecological filters in road embankment revegetation under semiarid Mediterranean conditions. *Ecological Engineering*, 33, 258-264.
- Vivanco, L., Austin, A.T. 2006. Intrinsic effects of species on leaf litter and root decomposition: a comparison of temperate grasses from North and South America. *Oecologia*, 150, 97-107.
- Vogel, K.P., Petersen, J.F., Masterson, S.D., Toy, J.J. 1999. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF and IVDMD forage analysis. *Crop Science*, 39, 276-279.
- Walkley, A., Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 34, 29-38.
- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., van der Putten, W.H., Wall, D.H. 2004. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304, 1629-1633.

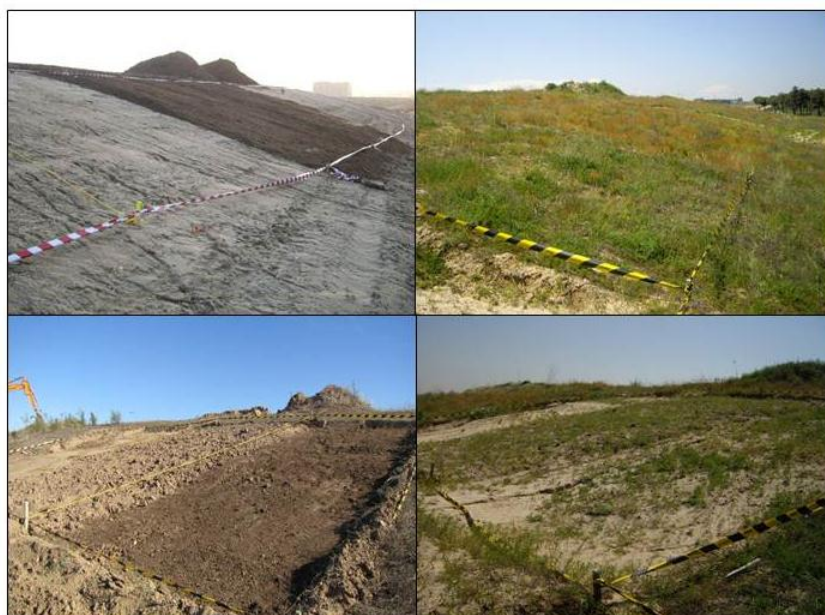
Wilson, C.C 1979. Roadsides - corridors with high fire hazard and risk. *Journal of Forestry*, **77**, 576-580.

Witkamp, M. 1966. Decomposition of leaf litter in relation to environment, microflora and microbial respiration. *Ecology*, **47**, 194-201.

Yahdjian, L., Sala, O.E., Austin, A.T. 2006. Differential controls of water input on litter decomposition and nitrogen dynamics in the Patagonian steppe. *Ecosystems*, **9**, 128-141.

Zuluaga, J., Rodríguez, N., Rivas-Ramírez, I., de la Fuente, V., Rufo, L., Amils, R. 2011. An improved semiquantitative method for elemental analysis of plants using Inductive Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Biological Trace Element Research*, **144**, 1302-1317.

DISCUSIÓN GENERAL



DISCUSIÓN GENERAL

Los trabajos presentados en esta Tesis Doctoral han conseguido establecer unas pautas para el manejo y gestión de la tierra vegetal encaminadas a optimizar su uso en la restauración de espacios afectados por el movimiento de tierra. Debido a que la tierra vegetal es un recurso ampliamente valorado por su aporte de semillas, nutrientes y microorganismos, en esta Tesis Doctoral se ha estudiado qué ocurre con estos componentes cuando se procede a la retirada de la tierra vegetal, así como el estado de las semillas presentes en la misma tras los largos periodos de tiempo en los que la tierra vegetal permanece acopiada. Por otro lado, y teniendo en cuenta que la tierra vegetal es un recurso deficitario en la construcción de infraestructuras lineales, se han evaluado dos alternativas al extendido habitual de 30 cm de espesor de tierra vegetal: el uso de una capa de tierra vegetal de menor espesor y el extendido de una enmienda orgánica alternativa, como es el estiércol de caballo.

En definitiva, los resultados obtenidos en esta Tesis han permitido profundizar en el conocimiento de la técnica de restauración de espacios degradados más eficiente de las empleadas hasta el momento: el extendido de tierra vegetal. Esta aportación es de gran relevancia teniendo en cuenta que la construcción de infraestructuras lineales, actividad que acarrea una importante degradación ambiental (Forman y Alexander 1998; Forman 2000; Bochet y García-Fayos 2004; Matesanz et al. 2006), está aumentando notablemente en los últimos años debido al incremento de la densidad de población y de las necesidades de transporte (Forman y Alexander 1998). Con la construcción de estas infraestructuras, y por la propia topografía del terreno, se originan los taludes caracterizados por una marcada pendiente. Estas estructuras modifican el hábitat natural, alterando el medio físico y químico (Trombulak y Frissell 2000) y generan amplias superficies de suelo desnudo. La ausencia de una cobertura vegetal estable incrementa la incidencia de la erosión en los taludes y genera ecosistemas de gran fragilidad (Martínez-Alonso y Valladares 2002; Bochet y García-Fayos 2004; Matesanz et al. 2005; Xu et al. 2011) y escasa biodiversidad (Balaguer 2002).

De entre las técnicas de restauración, cuyo objetivo es promover el desarrollo de una cubierta vegetal estable que palie los problemas de erosión (Forman 2000; Forman y Alexander 1998; Montalvo et al. 2002), el extendido de tierra vegetal está considerada la técnica más eficiente tanto en la construcción de infraestructuras lineales (Scoles y DeFalco 2003; Bote et al. 2005; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010a; Mola et al. 2011), como en explotaciones mineras (Rokich et al. 2000; Zhang et al. 2001; Bowen et al. 2005; Hall et al. 2010).

A lo largo de los distintos experimentos llevados a cabo en este trabajo, ha quedado demostrado que la tierra vegetal debe su éxito al aporte de semillas autóctonas (Rokich et al. 2000; Holmes 2001; Tormo et al. 2007; Capítulo 1 y 3), nutrientes (Balaguer 2002; Capítulo 1 y 2) y microorganismos (Visser et al. 1984; Capítulo 2). De este modo, la tierra vegetal contribuye al desarrollo de una cubierta vegetal estable (Zhang et al. 2001; Balaguer 2002; Scoles y DeFalco, 2003; Bote et al. 2005), así como a la reducción de la pérdida de diversidad asociada a las obras, al aumentar la riqueza de especies, en comparación con otros tratamientos de restauración de la cubierta vegetal como las hidrosiembras o la fertilización (Bote et al. 2005; Capítulo 1)

Respecto al problema de la escasez de tierra vegetal en la restauración tras la construcción de estas infraestructuras, se ha comprobado que el uso de un menor espesor de tierra vegetal, 10 cm frente a los 30 cm habituales, resulta igual de eficiente si tenemos en cuenta el aporte total de semillas, las propiedades físico-químicas del suelo, la cobertura de herbáceas, y la riqueza y diversidad de especies. Esto resulta de gran interés ya que las empresas encargadas de la realización de estos proyectos mezclan la tierra vegetal, al ser deficitaria, con capas más profundas de suelo, para seguir el protocolo de adicción de 30 cm, que provoca una importante merma en las propiedades de este recurso.

Tierra vegetal y disponibilidad de semillas

El banco de semillas del suelo, es decir, constituido por las semillas viables contenidas, constituye uno de los mecanismos más importantes para el desarrollo de vegetación autóctona (Zhang et al. 2001; Balaguer 2002; Scoles y DeFalco 2003; Bote et al. 2005).

Es, por tanto, un factor clave en la composición de las comunidades vegetales, sobre todo en ambientes muy perturbados (Thompson et al. 1997) en los que su uso en proyectos de restauración está ampliamente extendido (Bakker et al. 1996; Rokich et al. 2000).

En la fase de obra, antes del inicio de la construcción de la infraestructura se procede a la retirada de los primeros 30 cm de tierra vegetal para, posteriormente, usarla en la restauración de la zona alterada. No obstante, los resultados aquí obtenidos muestran que, solo en la retirada y transporte de la tierra vegetal, se produce una pérdida del 70% de las semillas viables (Capítulo 1) debido a un efecto de dilución del banco (Scoles y DeFalco 2003). Esto se debe al hecho de recoger 30 cm de espesor de suelo cuando, en realidad, es en los primeros 5 cm dónde se encuentra el 90% de las semillas (Fenner y Thompson 2005; Traba et al. 2006). Así pues, es posible que retirar una capa de suelo de menor potencia incrementase la eficiencia del uso de este recurso para la restauración de estos espacios, ya que se eliminaría el efecto de dilución y se reduciría el espacio necesario para su almacenamiento.

En cuanto a los dos tipos de extendidos de tierra vegetal comparados en el Capítulo 1, el habitual de 30 cm de espesor y el alternativo de 10 cm, la cantidad de semillas viables aportadas por el *pool* del suelo fue la misma. De esta forma, se puede optimizar el uso de tierra vegetal extraída sin comprometer el éxito de la restauración. Pero, ¿qué le sucede a la cubierta vegetal con las prácticas de extendido de tierra vegetal que se emplean actualmente?

Puesto que uno de los principales objetivos de la restauración es el control de la erosión, es importante que tenga lugar un rápido establecimiento de la vegetación para asegurar la estabilidad del talud y evitar posibles desprendimientos de materiales hacia la vía (Cerdá 2007; Bochet et al. 2010a). Ha quedado demostrado que la aplicación de tierra vegetal favorece la cobertura de herbáceas (Tormo et al. 2007; Mola et al. 2011); sin embargo, este efecto no fue tan evidente en el Capítulo 1 de esta Tesis. Durante el primer año de muestreo, tras el extendido de la tierra vegetal, la cobertura de vegetación fue mayor en las parcelas control que en aquellas con extendido de tierra vegetal. Esto

fue debido a la presencia de tres especies -*Polygonum aviculare*, *Spergularia purpurea* y *Anthemis arvensis*- adaptadas a crecer en ambientes pobres (Ortega et al. 1987) y que presentan una elevada cobertura vegetal por individuo. Asimismo, el carácter persistente de sus semillas pudo facilitar su presencia en el terraplén con anterioridad a la realización del diseño experimental. Por el contrario, en el caso del extendido de tierra vegetal llevado a cabo en el experimento del Capítulo 3, la cobertura vegetal fue significativamente mayor en los extendidos de tierra vegetal y estiércol que en las parcelas control. Esta diferencia en la cobertura pudo deberse a la época de retirada y extendido de la tierra vegetal. En el primer caso, por cuestiones de planificación de obra, la tierra vegetal se retiró y extendió en diciembre de un año caracterizado por un otoño extremadamente seco. Las lluvias fueron consistentes a partir de la puesta en marcha del experimento, pero las bajas temperaturas pudieron reducir el establecimiento de plántulas durante el primer año en las parcelas con tierra vegetal (Capítulo 1 y 2). En el caso del experimento del Capítulo 3, tanto el estiércol como la tierra vegetal se recogieron y extendieron en octubre, el mismo día del decapado de la superficie de los taludes, época con condiciones ambientales más favorables para la germinación e instalación de plántulas.

Otro de los procesos ecológicos relevantes en el desarrollo de la cubierta vegetal es la lluvia de semillas procedente de áreas próximas (Bochet et al. 2007; González-Alday et al. 2009; De la Riva et al. 2011; Mola et al. 2011), la cual supera, en ocasiones, a la cantidad de semillas procedente de la propia tierra vegetal (Mola et al. 2011). Durante el verano y otoño de 2010 la recarga mediante lluvia de semillas fue responsable de la homogeneización de la composición florística en todos los tratamientos. Sin embargo, que el segundo año del experimento se produjera un mayor incremento de la cobertura herbácea y riqueza de especies en las parcelas con tierra vegetal, nos indica que los mecanismos de filtrado de especies son más efectivos en ausencia de tierra vegetal al ser ambientes con condiciones más extremas (menor fertilidad, menor actividad microbiana, etc.). El hecho de que aumente el número de especies durante las primeras etapas de la sucesión vegetal, tal y como ya han descrito otros autores (Bote 2005; Hall et al. 2010; de la Riva et al. 2011), confiere a los taludes una mayor estabilidad. Por un

lado, disminuye la cantidad de suelo desnudo, factor determinante en la pérdida de suelo debido a la erosión (Bochet et al. 2010a), y por otro, aumenta la composición florística permitiendo que la fenología de las especies no se solape en los periodos especialmente críticos para los taludes.

Hasta este punto, se ha discutido el proceso para optimizar el manejo del banco de semillas presente en la tierra vegetal en las fases de recogida y extendido. Sin embargo, tras la retirada de la tierra vegetal, ésta se suele almacenar en grandes acopios durante largas temporadas. Es conocido por muchos autores, que la profundidad de enterramiento y el tiempo de almacenamiento influyen negativamente en la supervivencia de las semillas (Benvenuti et al. 2001; Grundy et al. 2003; Chen y Maun 1999). No obstante, y debido a la necesidad de realizar restauraciones exitosas en cuanto a la comunidad vegetal (von Blanckenhagen y Poschlod 2005), en la presente Tesis Doctoral se han tenido en cuenta algunas características morfológicas y fisiológicas de las semillas, lo que ha permitido predecir el destino de éstas tras la fase de acopio de la tierra vegetal (Milberg y Anderson 1998; Baskin y Baskin 2006).

El resultado más importante obtenido en el Capítulo 4 es que durante el almacenamiento de la tierra vegetal se produce una pérdida de semillas viables, tal y como describieron Rokich et al. (2000) y Scoles y DeFalco (2003) en sus experimentos pero, sobre todo que esta pérdida es predecible en función de las características morfológicas y fisiológicas de las semillas.

La pérdida de semillas viables a lo largo del tiempo de almacenamiento fue debido tanto al aumento de la germinación como de la mortalidad de las semillas. La germinación de semillas disminuyó con la profundidad de enterramiento a causa de la ausencia de luz (Wesson y Wareing 1969; Grime 1989; Benvenuti 1995; Milberg et al. 2000) y de una menor oscilación térmica (Quinlivan 1966; Taylor 1981; Fenner y Thompson 2005). Además, se encontró una relación negativa entre el peso de la semilla y el índice de respuesta a la luz, mecanismo por el cual se dificulta la germinación de semillas pequeñas en profundidad. De esta forma, y aunque con la profundidad la pérdida de semillas por germinación no fue muy alta, ésta afectó más a las semillas grandes.

Algunos autores interpretan esta mayor capacidad de las semillas grandes para germinar como una adaptación para huir de la depredación de los herbívoros, mientras otros autores (Chen y Maun 1999) proponen que las especies con semillas grandes, y por tanto con mayores reservas (Fenner y Thompson 2005), son capaces de alcanzar la superficie aún por debajo de los 5 cm. Por esta razón, las semillas grandes no suelen formar parte de los bancos de semillas persistentes (Thompson et al. 1993; Peco et al. 2003).

La mortalidad de las semillas también fue mayor en profundidad debido sobre todo al ataque de patógenos, cuya presencia se vio favorecida por el incremento de la humedad con la profundidad. La mortalidad fue mucho más acusada en el caso de las semillas pequeñas, debido a una testa más blanda y a una menor cantidad de reservas que las semillas grandes.

Tras la recuperación mensual de las semillas, aquellas que aún permanecían sin germinar se introdujeron en la cámara de germinación con el propósito de comprobar si, después del extendido de la tierra vegetal, eran capaces de germinar y contribuir al desarrollo de la cubierta vegetal. No obstante, hay que tener en cuenta que las condiciones controladas de la cámara de germinación, por defecto, óptimas para dicho fin, probablemente no tengan nada que ver con las condiciones existentes en el propio escenario de la obra. Simplemente reproducen lo que ocurriría en las condiciones más favorables con el potencial restaurador de la tierra vegetal tras su almacenamiento. En este sentido, se observó que la capacidad de germinación de las semillas fue disminuyendo a lo largo del tiempo, sobre todo en aquellas que se encontraban en superficie. Así pues, las semillas en profundidad conservaron su capacidad para germinar hasta que las condiciones volvieron a ser óptimas, mientras que en superficie entraron en un estado de dormancia. Por todas estas razones, para aumentar el potencial restaurador de la tierra vegetal se recomiendan acopios de mayor volumen.

A pesar de que esta Tesis no analiza la importancia del momento de recogida de la tierra vegetal, resulta de gran relevancia saber que en ambientes mediterráneos el pico de máxima producción de semillas se sitúa en el verano, mientras que la germinación de

éstas se produce tras las primeras precipitaciones de otoño (Ortega et al 1987). Por tanto, la planificación temporal de la restauración, especialmente en lo referente a la recogida y extendido de tierra vegetal, debería sincronizarse en la medida de lo posible con las particularidades fenológicas del clima mediterráneo. Por lo tanto, el momento óptimo de recogida de la tierra vegetal se situaría al final del verano y su extendido debería hacerse antes de las primeras lluvias de otoño, evitando prolongar su almacenamiento.

Tierra vegetal y propiedades físico-químicas

El suelo tiene un papel importante como soporte de la cubierta vegetal y como reserva de nutrientes. Estos nutrientes son esenciales para el correcto desarrollo de las plantas y su concentración en el suelo condicionará la productividad de la comunidad vegetal.

En el Capítulo 2, la caracterización de las propiedades físico-químicas del suelo de los tratamientos utilizados en el experimento de Navalcarnero, ha revelado un contenido en materia orgánica casi nulo en el tratamiento control. La cantidad de materia orgánica y la concentración de nitrógeno aumentan de forma muy significativa con la aplicación de tierra vegetal. Sin embargo, el potasio y el fósforo asimilable no difirieron entre tratamientos. Debido a que, en los experimentos de los Capítulos 1 y 3, la tierra vegetal utilizada procedía de un pinar, el pH disminuyó en las parcelas con extendidos de tierra vegetal, además de aumentar la cantidad de limos. Un aspecto muy relevante es que no hubo diferencias en la concentración de nutrientes o propiedades físicas entre los extendidos de tierra vegetal a 10 y 30 cm. Así pues, nuestros resultados no apoyan la hipótesis de otros autores que defienden que el uso de una mayor potencia de extendido aumenta la cobertura vegetal (Holmes 2001) y disminuye la riqueza de especies (Bowen et al. 2005). Dado que las semillas enterradas en el suelo por debajo de los 5 cm tienen dificultades para germinar y emerger a la superficie (Rokich et al. 2000; Benvenuti et al. 2001; Ren et al. 2002; Traba et al. 2004; Traba et al. 2006; Calado et al. 2009), sería recomendable extender capas de tierra vegetal de menor espesor que las que actualmente se vienen realizando, para conseguir así un mejor aprovechamiento de este recurso. Este cambio en el manejo de la tierra vegetal podría suponer un elevado ahorro

económico y una mejor distribución de la misma para la restauración de estos espacios afectados en función de la demanda.

En general, la tierra vegetal aplicada en los tratamientos presentó valores similares de materia orgánica y nitrógeno que otros trabajos de restauración de taludes (Andrés y Jorba 2000; Valladares y Alonso 2001; Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010a; Jiménez et al. 2011). Sin embargo, debido a que es en las primeras capas de suelo dónde se concentra la mayor proporción de nutrientes (Jobbágy y Jackson 2001), la dilución generada al retirar la tierra vegetal provocó valores de materia orgánica, nitrógeno y potasio muy bajos con respecto al de los pastizales y matorrales xerofíticos de la misma región (Acosta 2005; Peco et al. 2006), hecho que podría estar comprometiendo los resultados de la restauración (Mola et al. 2011).

Una alternativa para enriquecer la tierra vegetal, sería el uso de enmiendas orgánicas como, por ejemplo, las empleadas en agricultura, que contribuyan a acelerar la colonización de los taludes (Roldán et al. 1996; Ros et al. 2003) (ver resultados del Capítulo 5).

Tierra vegetal y actividad microbiana

En los últimos años se ha puesto de manifiesto la importancia de los microorganismos en la restauración de suelos afectados por fuertes condiciones de estrés (Bardgett et al. 2007; Schmidt et al. 2008; García-Orenes et al. 2010; García-Palacios et al. 2010). Esto es porque las interacciones planta-suelo tienen una gran influencia sobre la disponibilidad de nutrientes a través de la descomposición de la materia orgánica y los flujos de energía (Wilczek et al. 2005; Gliieber y Lueders 2009). Profundizar en cómo afecta a las comunidades microbianas el manejo de la tierra vegetal resulta fundamental para optimizar el uso de este recurso.

En la presente Tesis Doctoral se han utilizado dos parámetros para estimar la actividad microbiana del suelo: la actividad de dos enzimas (fosfatasa y β -glucosidasa) y la respiración del suelo. La actividad fosfatasa mide la cantidad de fósforo asimilable por las plantas y, además de ser un indicador del estado del suelo (Zorzone et al. 2006), está

directamente relacionado con la formación de micorrizas (Alvear et al. 2006). Por su parte, la actividad β -glucosidasa es un buen indicador de la cantidad de materia orgánica y, por tanto, de la cantidad de carbono (Ros et al. 2003). El segundo de los parámetros, la respiración del suelo, mide el flujo de dióxido de carbono (CO_2) procedente principalmente de los microorganismos desde la superficie del suelo a la atmósfera. Este parámetro es una buena medida del metabolismo global del ecosistema e, indirectamente, de la actividad microbiana (Jensen et al. 1996; Ryan y Law 2005).

La actividad enzimática, ya sea relacionada con el fósforo o el carbono, fue mayor en las parcelas con extendido de tierra vegetal que en las control. Esto se debió posiblemente al mayor contenido en materia orgánica aportado por la aplicación de tierra vegetal (Jordan et al. 1995; Bandick y Dick 1999; Araújo et al. 2009). El hecho de que la actividad de estas enzimas no difiriera entre las potencias de extendido de 10 y 30 cm de tierra vegetal, incide de nuevo en el potencial ahorro, de espacio de almacenamiento, que se puede generar disminuyendo el espesor de los extendidos de tierra vegetal tras la obra.

En cuanto a la respiración del suelo, se encontraron variaciones según la estación del año, siendo más alta en los meses más húmedos y calurosos (Davidson et al. 1998; Rey et al. 2002), ya que en estos meses se produce una mayor actividad en suelos perturbados (Litton et al. 2003; Castillo-Monroy et al. 2010). La respiración del suelo en las parcelas con extendido de tierra vegetal fue mayor que en las parcelas control, y más alta en aquéllas con mayor volumen de tierra vegetal, aun no existiendo diferencias en la cantidad de materia orgánica. Esto podría ser debido a su capacidad de retención de agua, factor directamente proporcional a la actividad microbiana. A pesar de que las concentraciones de nutrientes fueron relativamente bajas en las parcelas analizadas, el valor medio mensual de la respiración del suelo fue similar al encontrado en pastos templados ($0,050 \text{ g CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) (Raich y Schlesinger 1992).

La respiración edáfica fue mayor en la parte baja del talud (Collins et al. 1992) posiblemente relacionado con el gradiente de fertilidad (Bergstrom et al. 1998) y cobertura de vegetación (Tormo et al. 2009). Teniendo en cuenta que este efecto fue

inapreciable en los resultados de la actividad enzimática, cabe resaltar que, aparte de ser más sencilla, la medida de la respiración del suelo es más sensible a posibles diferencias que la actividad enzimática.

La importancia de los microorganismos en la restauración de estos espacios degradados no sólo se basa en el reciclaje de la materia para obtener nutrientes disponibles para las plantas, sino que también contribuyen a la degradación de la biomasa de los taludes. La acumulación de biomasa en terraplenes genera la necesidad de realizar mayores esfuerzos en las siegas veraniegas, con el fin de evitar incendios, y supone un encarecimiento anual de estas tareas de conservación de las vías por parte de las concesionarias.

En cuanto a la tasa de descomposición de la hojarasca de especies comúnmente hidrosembradas en los taludes, analizada en el Capítulo 5, el hecho de que ésta no sea mayor en las parcelas con tierra vegetal, al contrario de lo esperado según los resultados del Capítulo 2, podría deberse a que la tierra vegetal empleada en los taludes de El Molar es mucho más pobre que la empleada en los de Navalcarnero. La pobreza de estos suelos, aún mayor que la encontrada en otros taludes de carretera caracterizados como suelos pobres (Tormo et al. 2007; Bochet et al. 2010a; Jiménez et al. 2011), así como valores de respiración del suelo casi nulos e iguales entre desmontes y terraplenes (datos no incluidos); no favorecen el reciclaje de los nutrientes mediante la descomposición de la hojarasca.

La mayor cantidad de biomasa encontrada en los terraplenes, a pesar de la ausencia de diferencias en la tasa de descomposición entre ambos tipos de taludes, se puede deber a la mayor fertilidad relativa de éstos frente a los desmontes, lo que coincide con las observaciones de numerosos autores (Bochet y Garcia-Fayos 2004).

En este sentido, se recomienda un aporte extra de leguminosas frente a gramíneas en las hidrosiembras de taludes, ya que la hojarasca de leguminosas se descompone más rápidamente. De este modo, además de incorporarse más rápidamente al suelo y acelerar el reciclado de nutrientes, contribuirían a enriquecer el suelo mediante la fijación de

nitrógeno y a reducir el riesgo de incendios asociados a una acumulación excesiva de biomasa.

Uso de estiércoles como alternativa a la tierra vegetal

Con todo lo visto hasta ahora queda confirmado que la tierra vegetal fomenta el establecimiento de una cubierta vegetal a través del banco de semillas, de los nutrientes y de los microorganismos. Además, extender menores potencias de tierra vegetal de las actualmente empleadas optimizaría este escaso recurso sin comprometer el éxito de la restauración. Sin embargo, es importante continuar investigando técnicas de restauración alternativas al extendido de tierra vegetal y poder llevar a cabo proyectos de restauración satisfactorios. En este sentido, y teniendo en cuenta las prácticas agrícolas tradicionales, parece interesante el uso de enmiendas orgánicas dada su disponibilidad y bajo coste. De hecho, en los últimos años se han estado aplicando desechos orgánicos con gran cantidad de materia orgánica sobre suelos semiáridos como práctica ambiental para incorporar materia orgánica y nutrientes en suelos perturbados (Ros et al. 2003).

La aplicación de extendidos de tierra vegetal y de estiércol favoreció el crecimiento de herbáceas los primeros meses tras la construcción del talud, aunque la tierra vegetal produjo una mayor riqueza de especies que el estiércol. Esto puede tener que ver con la mayor riqueza y densidad de semillas viables en la tierra vegetal. Sin embargo, esta tierra vegetal llevaba almacenada 10 meses y se había enriquecido en semillas viables en comparación con la tierra vegetal recién recogido (Capítulo 1). La ausencia de diferencias significativas en la cobertura de herbáceas y suelo desnudo entre ambos tratamientos, respalda el uso de estiércol como alternativa eficiente a la tierra vegetal en los proyectos de restauración. Hay que tener en cuenta que el estiércol empleado en el experimento procedía de caballos estabulados, que se alimentaban de heno y pienso, por lo que estos aportes carecían de semillas viables. En futuros proyectos de restauración, el empleo de estiércol de ganado extensivo recogido en verano y otoño, después de la producción de semillas, podría suponer un mayor aporte de semillas y especies, debido

al relevante papel del ganado como dispersor de semillas viables en sus heces (Malo y Suarez 1995).

En cuanto a la presencia de nutrientes en el suelo, las concentraciones de materia orgánica y nitrógeno fueron similares en las parcelas tratadas con estiércol y tierra vegetal. Probablemente, estos dos parámetros condicionaron la presencia de vegetación en el talud, ya que ambos tratamientos produjeron una mayor cobertura de herbáceas que el control. Sin embargo, con respecto a otros elementos como fósforo y potasio, y presencia de agua útil, las parcelas en las que se extendió estiércol mostraron valores superiores a las parcelas con extendido de tierra vegetal y los controles. Este hecho pone de manifiesto las ventajas de la adición de estiércol sobre la composición del suelo y su capacidad de retención de agua, aspectos importantes en el desarrollo de la vegetación (Edmeades et al. 2003). No obstante, a pesar de que el estiércol aportó, en general, una mayor cantidad de nutrientes al suelo, el potencial de la tierra vegetal como elemento enriquecedor del sustrato no se vio comprometido. Una mayor cobertura de hojarasca presente en las parcelas de tierra vegetal, junto a unas tasas de respiración edáfica superiores a aquellas en las que se aplicó estiércol, favorecerían el reciclaje de la materia orgánica incrementando la concentración de nutrientes disponibles.

Referencias

- Acosta, B. 2005. *Comportamiento de los componentes aéreo y subterráneo de pastizales en diferentes condiciones ambientales*. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Alvear, M., Pino, M., Castillo, R., Trasar-Cepeda, C., Gil-Sotres, F. 2006. Efecto de la cero labranza sobre algunas actividades biológicas en un alfisol del sur de Chile. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 6, 38-53.
- Andrés, P., Jorba, M. 2000. Mitigation strategies in some motorway embankments (Catalonia, Spain). *Restoration Ecology*, 8 (3), 268–275.

- Araújo, A.S.F., Leite, L.F.C., Santos, V.B., Carneiro, R.F.V. 2009. Soil microbial activity in conventional and organic agricultural systems. *Sustainability*, 1, 268-276.
- Bakker, J.P., Poschlod, P., Strykstra, R.J., Bekker, R.M., Thompson, K. 1996. Seed banks and seed dispersal: important topics in restoration ecology. *Acta Botanica Neerlandica*, 45, 461-490.
- Balaguer, L. 2002. Las limitaciones de la restauración de la cubierta vegetal. *Ecosistemas*, 11, 72-82.
- Bandick, A.K., Dick, R.P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology & Biochemistry*, 31, 1471-1479.
- Bardgett, R.D., Richter, A., Bol, R., Garnett, M.H., Bäumler, R., Xu, X., Lopez-Capel, E., Manning, D., Hobbs, P.J., Hartley, I.R., Wanek, W. 2007. Heterotrophic microbial communities use ancient carbon following glacial retreat. *Biology Letters*, 3, 487-490.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M. 2006. The natural history of soil seed banks of arable land. *Weed Science*, 54, 549-557.
- Benvenuti, S. 1995. Soil light penetration and dormancy of jimsonweed (*Datura stramonium*) seeds. *Weed Science*, 43, 389-393.
- Benvenuti, S., Macchia, M., Miele, S. 2001. Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. *Weed Science*, 49, 528-535.
- Bergstrom, D.W., Monreal, C.M., Millette, J.A., King, D.J. 1998. Spatial dependence of soil enzyme activities along a slope. *Soil Science Society of America Journal*, 62, 1302-1308.
- Bochet, E., García-Fayos, P. 2004. Factors controlling vegetation establishment and water erosion on motorway slopes in Valencia, Spain. *Restoration Ecology*, 12, 166-174.

Bochet, E., Garcia-Fayos, P., Alborch, B., Tormo, J. 2007. Soil water availability effects on seed germination account for species segregation in semiarid roadslopes. *Plant Soil*, 295, 179-191.

Bochet, E., García-Fayos, P., Tormo, J. 2010a. How can we control erosion of roadslopes in semiarid Mediterranean areas? Soil improvement and native plant establishment. *Land Degradation & Development*, 21, 110-121.

Bote, D., Valladares, F.J., Matesanz, S., Tena, D. 2005. Importancia de la tierra vegetal en la vegetación de desmonte. *Ciencia y Técnica*, 80, 19-24.

Bowen, C.K., Schuman, G.E., Olson, R.A., Ingram, L.J. 2005. Influence of topsoil depth on plant and soil attributes of 24-year old reclaimed mined lands. *Arid Land Research and Management*, 19, 267-284.

Calado, J.M.G, Basch, G., de Carvalho, M. 2009. Weed emergence as influenced by soil moisture and air temperature. *Journal of Pest Science*, 82, 81-88.

Castillo-Monroy, A.P., Maestre, F.T., Rey, A, Soliveres, S., García-Palacios, P. 2010. Biological soil crusts are a key contributor to soil CO₂ efflux, and modulate its spatio-temporal variability in a semi-arid Mediterranean ecosystem. Tesis Doctoral: Ecología funcional de la costra biológica en ambientes semiáridos gipsícolas de la Península Ibérica.

Cerdá, A. 2007. Soil water erosion on road embankments in eastern Spain. *Science of the Total Environment*, 378, 151-155.

Chen, H., Maun, M.A. 1999. Effects of sand burial depth on seed germination and seedling emergence of *Cirsium pitcheri*. *Plant Ecology*, 140, 53-60.

Collins, H.P., Rasmussen, P.E., Douglas, Jr. C.L. 1992. Crop rotation and residue management effects on soil carbon and microbial dynamics. *Soil Science Society of America Journal*, 56, 783-788.

- Davidson, E.A., Belk, E., Boone, R.D. 1998. Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hadwood forest. *Global Change Biology*, 4, 217-227.
- De la Riva, E.G., Casado, M.A., Jiménez, M.D., Mola, I., Costa-Tenorio, M., Balaguer, L. 2011. Rates of local colonization and extinction reveal different plant community assembly mechanisms on road verges in central Spain. *Journal of Vegetation Science*, 22, 292-302.
- Edmeades, D. 2003. The long-term effects of manures and fertilisers on soil productivity and quality: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 66, 165-180.
- Fenner, M., Thompson, K. 2005. *The ecology of seeds*. Cambridge University Press.
- Forman, R.T.T. 2000. Estimate of the area affected ecologically by the road system in the United States. *Conservation Biology*, 14, 31-35.
- Forman, R.T.T., Alexander, L.E. 1998. Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 29, 207-231.
- García-Orenes, F., Guerrero, C., Roldán, A., Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Campoy, M., Zornoza, R., Bárcenas, G., Caravaca, F. 2010. Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid mediterranean agroecosystem. *Soil & Tillage Research*, 109, 110-115.
- García-Palacios, P., Soliveres, S., Maestre, F.T., Escudero, A., Castillo-Monroy, A.P., Valladares, F. 2010. Dominant plant species modulate responses to hydroseeding, irrigation and fertilization during the restoration of semiarid motorway slopes. *Ecological Engineering*, 36, 1290-1298.
- Glieber, C., Lueders, T. 2009. Microbial diversity in groundwater ecosystems. *Freshwater Biology*, 54, 649-677.

-
- González-Alday, J., Marrs, R.H., Martínez-Ruiz, C. 2009. Soil seed bank formation during early revegetation after hydroseeding in reclaimed coal wastes. *Ecological Engineering*, 35, 1062-1069.
- Grime, J.P. 1989. Seed banks in ecological perspective. In: Leck, M.A., Parker, V.T., Simpson, R.L. (Eds.). *Ecology of Soil Seed Banks, XV-XXII*. London Academic Press, London.
- Grundy, A.C., Mead, A., Burston, S. 2003. Modeling the emergence response of weed seeds to burial depth: interactions with seed density, weight and shape. *Journal of Applied Ecology*, 40, 757-770.
- Hall, S.H., Barton, C.D., Baskin, C.C. 2010. Topsoil seed bank of an Oak-Hickory forest in eastern Kentucky as a restoration tool on surface mines. *Restoration Ecology*, 18, 834-842.
- Holmes, P.M. 2001. Invasion and mining: Effects of topsoil depth, seed source, and fertilizer addition. *Restoration Ecology*, 9, 71-84.
- Jensen, L.S., Mueller, T. Tate, K.R., Ross, D.J., Magid, J., Nielsen, N.E. 1996. Soil surface CO₂ flux as an index of soil respiration in situ: a comparison of two chamber methods. *Soil Biology & Biochemistry*, 28, 1297-1306.
- Jiménez, M.D., Ruíz-Capillas, P., Mola, I., Pérez-Corona, E., Casado, M.A., Balaguer, L. 2011. Soil development at the roadside: a case study of a novel ecosystem. *Land degradation & development*.
- Jobbágy, E.G., Jackson, R.B. 2001. The distribution of soil nutrients with depth: Global patterns and the imprint of plants. *Biogeochemistry*, 53, 51-77.
- Jordan, D., Kremer, R.J., Bergfield, W.A., Kim, K.Y., Cacnio, V.N. 1995. Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. *Biology and Fertility of Soils*, 19, 297-302.

- Litton, C.M., Ryan, M.G., Knight, D.H., Stahl, P.D. 2003. Soil surface carbon dioxide efflux and microbial biomass in relation to tree density 13 years after a stand replacing fire in lodgepole pine ecosystem. *Global Change Biology*, 9, 680-696.
- Malo, J.E., Suárez, F. 1995. Establishment of pasture species on cattle dung pats. The role of endozoochorally dispersed seeds. *Journal of Vegetation Science*, 6, 169-174.
- Martínez-Alonso, C., Valladares, F. 2002. La pendiente y el tipo de talud alteran la relación entre la riqueza de especies y la cobertura de las comunidades herbáceas. *Ecología*, 16, 59-71.
- Matesanz, S., Valladares, F., Tena, D., Costa-Tenorio, M. 2005. Rasgos biogeográficos, florísticos y ecológicos de comunidades herbáceas en taludes de carretera al sur de España. *Ecología*, 19, 97-102.
- Matesanz, S., Valladares, F.J., Tena, D., Costa-Tenorio, M., Bote, D. 2006. Early dynamics of plant communities on revegetated motorway slopes from southern Spain: Is hydroseeding always needed? *Restoration Ecology*, 14, 297-307.
- Milberg, P., Anderson, L. 1998. Does cold stratification level out differences in seed germinability between populations? *Plant Ecology*, 134, 225-234.
- Milberg, P., Anderson, L., Thompson, K. 2000. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research*, 10, 99-104.
- Mola, I., Jiménez, M.D., López-Jiménez, N., Casado, M.A., Balaguer, L. 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: Management options under schedule pressure. *Restoration Ecology*, 19, 83-92.
- Montalvo, A.M., McMillan, P.A., Allen, E.B. 2002. The relative importance of seeding method, soil, ripping, and soil variables on seeding success. *Restoration Ecology*, 10(1), 52-67.
- Ortega, M., Levassor, C., Peco, B. 1987. Seasonal dynamics of Mediterranean pasture seed banks along environmental gradients. *Journal of Biogeography*, 24, 177-195.

-
- Peco, B., Traba, J., Levassor, C., Sanchez, A.M., Azcárate, F.M. 2003. Seed size, shape and persistence in dry Mediterranean grass and scrublands. *Seed Science Research*, 13, 87-95.
- Peco, B., Sánchez, A.M., Azcárate, F.A. 2006. Abandonment in grazing systems: Consequences for vegetation and soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113, 284-294.
- Quinlivan, B.J. 1966. The relationship between temperature fluctuations and the softening of hard seeds of some legume species. *Australian Journal of Agricultural Research*, 17, 625-631.
- Raich, J.W., Schlesinger, W.H. 1992. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus*, 44b: 81-99.
- Ren, J., Tao, L., Liuz, X. 2002. Effect of sand burial depth on seed germination and seedling emergence of *Calligonum* L. species. *Journal of Arid Environments*, 51, 603-611.
- Rey, A., Pegoraro, E., Tedeschi, V., De Parri, I., Jarvis, P.G., Valentini, R. 2002. Annual variation in soil respiration and its components in a coppice oak forest in Central Italy. *Global Change Biology*, 8, 851-866.
- Rokich, D.P., Dixon, K.W., Sivasithamparam, K., Meney, K.A. 2000. Topsoil handling and storage effects on woodland restoration in Western Australia. *Restoration Ecology*, 8, 196-208.
- Roldán, A., Albaladejo, J., Thornes, J.B. 1996. Aggregate stability changes in a semiarid soil after treatment with different organic amendments. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 10, 139-148.
- Ros, M., Hernandez, M.T., García, C. 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 463-469.

Ryan, M.G., Law, B.E. 2005. Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry*, 73, 3-27.

Schmidt, S.K., Reed, S.C., Nemergut, D.R., Grandy, A.S., Cleveland, C.C., Costello, E.K., Weintraub, M.N., Hill, A.W., Meyer, A.F., Martin, A.P., Neff, J.C. 2008. The earliest stages of ecosystem succession in high-elevation (5000 meters above sea level), recently de-glaciated soils. *Proceedings of the Royal Society*, 275, 2793-2802.

Scoles, S.J., DeFalco, L.A. 2003. The revegetation of disturbed areas associated with roads at Lake Mead National Recreation Area. Nevada. Report prepared for National Park Service. Lake Mead National Recreation Area. 11pp. (Technical Report).

Taylor, G.B. 1981. Effect of constant temperature treatments followed by fluctuating temperatures on the softening of hard seeds of *Trifolium subterraneum* L. *Australian Journal of Plant Physiology*, 8, 547-558.

Thompson, K., Band, S.R., Hodgson, J.G. 1993. Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology*, 7, 236-241.

Thompson, K., Bakker, J., Bekker, R. 1997. *The soil seed banks of North West Europe: methodology, density and longevity*. University Press of Cambridge, UK.

Tormo, J., Bochet, E., García-Fayos, P. 2007. Roadfill revegetation in semiarid mediterranean environments. Part II: Topsoiling, species selection, and hydroseeding. *Restoration Ecology*, 15, 97-102.

Tormo, J., Bochet, E., García-Fayos, P. 2009. Restauración y revegetación de taludes de carreteras en ambientes Mediterráneos semiáridos: procesos edáficos determinantes para el éxito. *Ecosistemas*, 18, 79-90.

Traba, J., Azcárate, F.M., Peco, B. 2004. From what depth do seeds emerge? A soil seed bank function experiment with Mediterranean grassland species. *Seed Science Research*, 14, 297-303.

Traba, J., Azcárate, F.M., Peco, B. 2006. The fate of seeds in Mediterranean soil seed banks in relation to their traits. *Journal of Vegetation Science*, 17, 5-10.

Trombulak, S.C., Frissell, C.A. 2000. Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. *Conservation Biology*, 14(1), 18-30.

Valladares, F., Alonso, C. 2001. Análisis ecológico de las medidas de revegetación de los taludes de la autopista de la Costa del Sol (Tramo A). Informe del proyecto TALMED (Ferrovia-Agroman, S.A.-CSIC).

Visser, S., Fujiikawa, J., Griffiths, C.L., Parkinson, D. 1984. Effect of topsoil storage on microbial activity, primary production and decomposition potential. *Plant and Soil*, 82, 41-50.

Von Blanckenhagen, B., Poschlod, P. 2005. Restoration of calcareous grasslands: the role of the soil seed bank and seed dispersal for recolonisation processes. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 9, 143–149.

Wesson, G., Wareing, P.F. 1969. The role of light in the germination of naturally occurring populations of buried weed seeds. *Journal of Experimental Botany*, 20, 402-413.

Wilczek, S., Fischer, H., Pusch, M.T. 2005. Regulation and seasonal dynamics of extracellular enzyme activities in the sediments of a large lowland river. *Microbial Ecology*, 50, 253-67.

Xu, C., Ye, H., Cao, S. 2011. Constructing China's greenways naturally. *Ecological Engineering*, 37, 401-406.

Zhang, Z.Q., Shu, W.S., Lan, C.Y., Wong, M.H. 2001. Soil seed bank as an input of seed source in revegetation of lead/zinc mine tailings. *Restoration Ecology*, 9, 378-385.

Zorzona, R., Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Arcenegui, V., García-Orenes, F., Mataix-Beneyto, J. 2006. Assessing air-drying and rewetting pre-treatment effect on some soil

enzyme activities under Mediterranean conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 2125-2134.

CONCLUSIONES GENERALES

Integrando los cinco estudios de esta Tesis Doctoral se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- 1- Con la recogida y extendido de la tierra vegetal se produce un considerable empobrecimiento del banco de semillas y de los nutrientes del suelo con respecto a la matriz original, debido a un efecto de dilución.
- 2- La aplicación de extendidos de tierra vegetal para la restauración de sistemas afectados por la construcción de infraestructuras lineales favorece el establecimiento de una cubierta vegetal con mayor riqueza de especies que la que se establecería de forma natural.
- 3- El extendido de tierra vegetal aumenta la actividad microbiana en los suelos perturbados. Se ha observado un incremento significativo de la actividad enzimática para las dos enzimas estudiadas (β -glucosidasa y fosfatasa ácida) en las parcelas con tierra vegetal frente a los controles, sin encontrar diferencias entre los dos tratamientos (T10 y T30).
- 4- La respiración del suelo, otra medida de la actividad microbiana, se ve incrementada también con la presencia de tierra vegetal. Parece, por tanto, que la aplicación de extendidos de tierra vegetal mejoran las propiedades físico-químicas del suelo y favorecen la actividad microbiana.
- 5- El volumen de tierra vegetal aplicado sobre las superficies a restaurar no parece introducir cambios significativos en estos parámetros (cobertura vegetal y actividad microbiana). Por tanto, se recomienda realizar extendidos de tierra vegetal con potencias no superiores a 10 cm que permitan una optimización de este recurso, a través de un ahorro de material o una mayor superficie tratada.
- 6- Los extendidos de estiércol de caballo y el de tierra vegetal mejoran las propiedades físico-químicas del suelo, favoreciendo el establecimiento de una cubierta de herbáceas que reduce la superficie de suelo desnudo. Este efecto es más claro con el extendido de

estiércol que con el de tierra vegetal, aunque la tierra vegetal promueve el establecimiento de comunidades vegetales más ricas en especies que el estiércol y sustratos con mayor actividad microbiana.

7- Las diferencias entre la tierra vegetal y el estiércol no parecen reflejarse en términos de cobertura vegetal en los taludes, por lo que para acelerar la restauración de taludes en los que su estabilización sea prioritaria, se recomienda el uso tanto de tierra vegetal como de estiércol. En caso de que el objetivo de la restauración fuese aumentar o mantener la diversidad de la vegetación local, se recomendaría realizar extendidos de tierra vegetal.

8- El tamaño y tiempo de los acopios va a condicionar el potencial restaurador de los bancos de semillas, ya que la capacidad para germinar de las semillas va reducirse con el tiempo y con la profundidad de enterramiento de manera irreversible.

9- La pérdida de semillas viables es debida tanto a su germinación como a su mortalidad. Cuanto mayor es el tiempo de almacenamiento mayor es la reducción del banco de semillas. Debido a que en profundidad la germinación es menor y la mortalidad apenas aumenta con respecto a la superficie, se recomienda el almacenamiento de tierra vegetal en grandes acopios.

10- La germinación en superficie sólo incrementa el potencial de restauración de la tierra vegetal cuando las plántulas completan un ciclo anual en el acopio y recargan el banco de semillas. No obstante, esta recarga podría quedar comprometida por el enterramiento de las semillas durante el proceso mecánico de extendido en el área a restaurar.

11- Los beneficios que aporta la tierra vegetal para la restauración de las áreas degradadas dependen, en gran medida, de la época en las que se recoge y se extiende. Así pues, en ambientes mediterráneos el verano es la estación idónea para la recogida de la tierra vegetal, coincidiendo con la máxima producción de semillas; mientras que el otoño, antes de las primeras precipitaciones, sería el mejor momento para su extendido.

De este modo, un buen manejo de la tierra vegetal es indispensable para conseguir restauraciones exitosas en ambientes muy perturbados como los taludes.

12- El extendido de tierra vegetal no parece influir en la descomposición de la hojarasca, y por tanto, en la desaparición de la biomasa de los taludes mediterráneos, probablemente debido a la escasa calidad de la tierra vegetal usada en la restauración de los terraplenes.

13- Las leguminosas son las especies que más rápido desaparecen de los taludes, por lo que se recomienda incluir una mayor proporción de estas especies en las mezclas de las hidrosiembras, ya que por un lado, contribuirán a enriquecer el suelo a través de la fijación de nitrógeno, y por otro, se incorporarían más rápidamente al suelo favoreciendo el reciclado de nutrientes, reduciendo el riesgo de incendios.

IMPLICACIONES Y RECOMENDACIONES

1. Recogida: debido a que la tierra vegetal sufre una gran dilución y por tanto un empobrecimiento de su contenido en semillas y nutrientes, se recomienda retirar perfiles menos profundos de tierra vegetal para así optimizar sus propiedades y favorecer aún más el establecimiento de una cubierta vegetal.

2. Almacenamiento: se recomienda que la tierra vegetal se almacene durante el menor tiempo posible y en acopios de grandes dimensiones para evitar la pérdida de semillas por germinación suicida. Una buena práctica sería planificar las retiradas de tierra vegetal por tramos a lo largo del trazado, y su extendido en otras zonas de la infraestructura para evitar su almacenamiento durante largos periodos de tiempo. De esta forma, se reducen los costes de terrenos de expropiación y de la realización de medidas de mantenimiento en estos acopios.

3. Extendido: la tierra vegetal incrementa el crecimiento de las plantas y la riqueza de especies, así como mejora la actividad microbiana y la fertilidad del suelo, favoreciendo la restauración de los taludes y, por tanto, la recuperación de estos ecosistemas.

Teniendo en cuenta que la tierra vegetal es un recurso escaso, según los resultados aquí presentados, se recomienda realizar extendidos de menor espesor, en concreto de 10 cm, frente a los 30 cm habituales. Esta estrategia optimizaría este recurso y abarataría los costes de los proyectos de restauración.

5. Extendidos alternativos: el estiércol de caballo es una buena alternativa a la tierra vegetal cuando hay déficit de ésta. Aunque las diferencias en cobertura son mínimas, se recomienda realizar extendidos de tierra vegetal en aquellas zonas en las que se pretenda aumentar o conservar la riqueza de especies autóctonas. Las ventajas de la aplicación de extendidos de estiércol son su carácter excedentario en las explotaciones ganaderas, su alto contenido en semillas y un coste mucho más reducido que el correspondiente a otro sustrato orgánico de los que se utilizan habitualmente en jardinería. Asimismo, se recomienda el uso conjunto de estiércol y tierra vegetal cuando esta última sea escasa.

6. Hidrosiembra: en caso que sea necesario aplicar hidrosiembras para fomentar la estabilidad de los taludes a través del crecimiento de la vegetación, se recomienda incluir una mayor proporción de leguminosas que de gramíneas. Las leguminosas se descomponen más rápidamente que las gramíneas, reduciendo los riesgos asociados a la acumulación de biomasa en el propio talud y en los márgenes de las carreteras, minimizando el riesgo de incendios y los costes asociados a las medidas de conservación. En concreto, se recomienda incluir la leguminosa *Vicia sativa*, ya que es la especie con mayor capacidad de crecimiento en los taludes, independientemente de la presencia de tierra vegetal.

